

На правах рукописи



**Зиятдинова Гузель Камилевна**

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКЕ  
АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ И  
ОБЪЕКТОВ ФАРМАЦИИ НА ОСНОВЕ ОРГАНИЗОВАННЫХ  
СРЕД И НАНОМАТЕРИАЛОВ**

02.00.02 – Аналитическая химия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора химических наук

Казань – 2016

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Казанский (Приволжский) федеральный университет" Министерства образования и науки Российской Федерации

Научный консультант: **Будников Герман Константинович**  
академик РАН, доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты **Стожко Наталия Юрьевна**  
доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой физики и химии ФГБОУ ВПО «Уральский государственный экономический университет», г. Екатеринбург

**Евгеньев Михаил Иванович**  
доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» г. Казань

**Короткова Елена Ивановна**  
доктор химических наук, профессор кафедры физической и аналитической химии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск

Ведущая организация ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет», г. Краснодар

Защита состоится «19» мая 2016 г. в 10 ч. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 212.081.30 при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: ул. Кремлевская, 18, Химический институт им. А.М. Бутлерова, Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», <http://www.kpfu.ru>.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах просим отправлять по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, Казанский (Приволжский) федеральный университет, отдел аттестации научно-педагогических кадров.

Автореферат разослан «      » февраля 2016 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д 212.081.30,  
кандидат химических наук

Л.С. Якимова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Антиоксиданты (АО) играют ключевую роль в системе антиоксидантной защиты живых организмов, защищая клетки от вредного воздействия свободных радикалов. Основными экзогенными источниками АО для человека являются продукты питания и лекарственные средства. Проявляемые ими антиоксидантные свойства зависят от структуры соединений, входящих в их состав, химической формы существования (нахождения) и концентрации, а также от природы объекта или среды, в которой АО находятся. Поэтому становится важной оценка антиоксидантных свойств продуктов питания и лекарственных средств, которая связана также и с контролем их качества. Это, в свою очередь, требует разработки доступных и экспрессных способов надежного определения антиоксидантных характеристик объектов.

Реакции АО со свободными радикалами включают перенос электронов, что позволяет использовать для их определения методы электроанализа, характеризующиеся высокой чувствительностью, быстротой процедуры и относительно невысокой стоимостью анализа, возможностью миниатюризации, что делает их весьма привлекательными для решения подобного рода задач. Кроме того эти методы могут сочетаться с детектированием в различных типах жидкостной хроматографии и капиллярном электрофорезе.

Реакционная способность АО проявляется в двух типах процессов: окислении на поверхности электродов в условиях вольтамперометрии и взаимодействии с возникающими на электроде окислителями в растворе, в частности, с кулонометрическими титрантами. Поэтому подходы на принципах вольтамперометрии и гальваностатической кулонометрии для определения индивидуальных АО в продуктах питания и объектах фармации и оценки их антиоксидантных свойств через обобщенные показатели, несомненно, следует рассматривать как перспективные.

Для решения такого рода задач представляет интерес использование одноэлектронных электрогенерированных окислителей, в частности, гексацианоферрат(III)-ионов. В общем случае при таком подходе могут исключаться побочные и конкурирующие реакции, влияющие на результаты определения, а с другой стороны, в какой-то степени моделироваться реакции, протекающие *in vivo*. В последнее время в органической вольтамперометрии большое внимание уделяют химически модифицированным электродам, в том числе на основе углеродных наноматериалов и их сочетаний с поверхностно-активными веществами (ПАВ). Кроме того, ПАВ обеспечивают солубилизацию липофильных соединений в водных средах, что может быть использовано в электроанализе жирорастворимых АО.

**Цель работы** заключалась в разработке новых электрохимических способов определения индивидуальных АО в продуктах питания и объектах фармации и оценки их антиоксидантных свойств через интегральные характеристики с применением химически модифицированных электродов на основе углеродных наноматериалов и организованных сред на основе ПАВ.

В соответствии с целью исследования в работе поставлены следующие **задачи**:

- разработать способы вольтамперометрического определения индивидуальных АО различных классов на электродах, модифицированных углеродными нанотрубками, в продуктах питания и лекарственных формах;
- разработать способы кулонометрического определения природных и синтетических фенольных АО, основанных на реакциях с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами;
- оценить возможность применения гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными бромом и гексацианоферрат(III)-ионами для исследования взаимодействия природных фенольных АО с протеинами;
- разработать способы электрохимической оценки интегральных антиоксидантных параметров (антиоксидантной емкости (АОЕ) и железовосстанавливающей способности (ЖВС)) продуктов питания;
- оценить возможность электрохимической генерации кулонометрических титрантов в присутствии ПАВ различной природы и разработать способы кулонометрического определения липофильных АО в лекарственных формах;
- установить характеристики электрохимического окисления индивидуальных АО в ПАВ-содержащих средах и разработать способы их экстракционно-вольтамперометрического определения в продуктах питания и лекарственных формах;
- создать электроды, модифицированные соиммобилизованными углеродными наноматериалами и ПАВ, для определения природных и синтетических фенольных АО в растительном сырье и продуктах питания.

**Научная новизна работы** состоит в том, что предложена единая методология применения комплекса электрохимических методов для оценки антиоксидантных свойств продуктов питания и лекарственных средств.

Установлены закономерности электрохимического окисления природных и синтетических фенольных (ди- и тригидроксибензолов, флавоноидов, галловой и гидроксикоричных кислот) и серосодержащих АО (аминокислот, унитиола и  $\alpha$ -липоевой кислоты), а также  $\alpha$ -токоферола и ретинола на электродах, модифицированных углеродными нанотрубками. Показано, что тип наноматериала и

способ его получения влияют на проявляемые электрокаталитические свойства электрода.

Найдены стехиометрические коэффициенты для природных и синтетических фенольных АО в реакциях с электрогенерированными титрантами и предложены схемы их взаимодействий. Показана применимость кулонометрического титрования с электрогенерированными бромом и гексацианоферрат(III)-ионами для оценки *in vitro* биодоступности фенольных АО в присутствии протеинов. Молочные протеины (казеин, бычий сыворотный альбумин и  $\beta$ -лактоглобулин) связывают рутин, кверцетин и таксифолин, переводя их в неактивную форму, причем рутин в рассматриваемом ряду связывается в меньшей степени.

Разработан способ оценки ЖВС напитков и специй, основанный на реакциях их АО с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами.

Получены характеристики окисления компонентов специй, коньяков, бренди и вин на электродах из углеродистых материалов в условиях циклической (ЦВА) и дифференциально-импульсной вольтамперометрии (ДИВ). Показано, что аналитические сигналы продуктов питания носят интегральный характер и обусловлены окислением их фенольных АО (гидроксикоричных кислот кофе, катехинов и танинов чая и вин, а также гидроксibenзойных кислот и ароматических альдегидов в коньяках и бренди).

Найдены рабочие условия электрохимической генерации галогенов и гексацианоферрат(III)-ионов в присутствии ПАВ различной природы, обеспечивающие количественный выход по току. Установлено, что концентрация ПАВ до 1 мМ не оказывает влияния на генерацию гексацианоферрат(III)-ионов, а для галогенов приемлемы лишь достаточно низкие концентрации ПАВ.

Показано, что липофильные АО ( $\alpha$ -токоферол, ретинол,  $\beta$ -каротин, эвгенол, пространственно-затрудненные фенолы (ПЗФ)) и менадион, выполняющий функцию редокс-медиатора в живых системах, электрохимически активны в ПАВ-содержащих средах. Оценено влияние природы и концентрации ПАВ на вольтамперометрический отклик аналитов и предложены соответствующие схемы реакций.

Найдены условия количественной экстракции липофильных АО и менадиона из лекарственных форм, растительного сырья и продуктов питания.

Созданы новые химически модифицированные электроды на основе соиммобилизованных углеродных наноматериалов и ПАВ для определения природных (морина, ванилина и сиреневого альдегида) и синтетических (*трет*-бутилгидрохинона и *трет*-бутилгидроксианизола) фенольных АО. Способ модификации поверхности электрода, природа и концентрация ПАВ влияют на вольтамперные характеристики АО, предложены схемы реакций окисления. Показана

возможность одновременного определения структурно родственных соединений на примере ароматических альдегидов и ПЗФ.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработанная методология определения индивидуальных АО и их суммарного содержания в реальных объектах расширяет области применения электрохимических методов в органическом анализе.

Предложены способы вольтамперометрического определения природных фенольных (рутина, кверцетина и таксифолина), серосодержащих (метионина,  $\alpha$ -липоевой кислоты и унитиола) АО, ретинола и  $\alpha$ -токоферола в лекарственных формах на электродах, модифицированных углеродными нанотрубками. Величина относительного стандартного отклонения не превышает 6 %.

Разработаны способы кулонометрического определения ряда АО в моно- и поликомпонентных лекарственных формах, основанного на их взаимодействии с электрогенерированными титрантами, в том числе в ПАВ-содержащих средах.

Оценена ЖВС экстрактов специй, чая и кофе. Показано, что ЖВС напитков значительно снижается в присутствии молока за счет взаимодействия его протеинов с фенольными АО чая и кофе.

Разработаны вольтамперометрические способы оценки АОЕ специй, чая и кофе, основанные на окислении их АО на стеклоуглеродном электроде (СУЭ) и модифицированном многослойными углеродными нанотрубками СУЭ (МУНТ/СУЭ) в условиях ЦВА и ДИВ. Установлены корреляции с общепринятыми антиоксидантными параметрами.

Гальваностатическая кулонометрия с электрогенерированными бромом и гексацианоферрат(III)-ионами, ДИВ и хроноамперометрия впервые применены для оценки антиоксидантных свойств и качества коньяков и бренди. Разработанный комплекс подходов характеризуются простотой, доступностью, надежностью получаемых результатов и может применяться для контроля качества бренди, позволяя установить факт грубой фальсификации напитков с применением пищевого или технического спирта и вкусоароматических добавок, имитирующих органолептические свойства качественных бренди.

Предложен способ хронокулонометрической оценки АОЕ вин, основанный на окислении их фенольных компонентов на МУНТ/СУЭ, характеризующийся простотой и экспрессностью и позволяющий значительно уменьшить объем образца, необходимый для проведения анализа.

Разработаны комбинированные способы экстракционно-вольтамперометрического определения липофильных АО ( $\alpha$ -токоферола, ретинола,  $\beta$ -каротина, эвгенола и ПЗФ) и менадиона в лекарственных формах, косметических

средствах и продуктах питания в ПАВ-содержащих средах; величина относительного стандартного отклонения не превышает 8.2 %.

Созданы амперометрические сенсоры на основе соиммобилизованных углеродных наноматериалов и ПАВ для определения природных и синтетических фенольных АО в растительном сырье и продуктах питания. Оценена возможность одновременного определения структурно родственных ПЗФ, а также ванилина и сиреневого альдегида. Полученные аналитические характеристики сенсоров превосходят таковые для существующих аналогов.

Показано, что применение модифицированных электродов на основе углеродных наноматериалов и организованных сред на основе ПАВ в электроанализе АО значительно улучшает аналитические характеристики их определения. В случае ПАВ-содержащих сред можно существенно снизить долю органического растворителя или в некоторых случаях полностью перейти к определению в водной среде.

**Методология и методы исследования.** В рамках проведенных исследований были использованы методы гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными титрантами, ЦВА и ДИВ, хроноамперо- и хронокулонометрии. Для характеристики поверхности электродов применяли сканирующую электронную (СЭМ) и атомно-силовую микроскопию (АСМ), а для сопоставления результатов анализа – спектрофотометрию.

***Положения, выносимые на защиту:***

- способы вольтамперометрического определения АО различной природы на электродах, модифицированных углеродными наноматериалами и их применение в анализе реальных объектов;
- кулонометрические способы определения природных и синтетических фенольных АО, основанные на их реакциях с электрогенерированными галогенами и гексацианоферрат(III)-ионами;
- результаты кулонометрической оценки взаимодействий фенольных АО природного происхождения с молочными протеинами;
- способы электрохимической оценки антиоксидантных свойств продуктов питания (специй, чая, кофе, коньяков и бренди, вин) методами гальваностатической кулонометрии, вольтамперометрии, хроноамперо- и хронокулонометрии, их сопоставление со стандартными методиками и аналитическое применение;
- результаты применения ПАВ в гальваностатической кулонометрии с электрогенерированными титрантами и способы определения липофильных АО в лекарственных формах с применением ПАВ-содержащих сред;

- вольтамперные характеристики АО и менадиона, способы их экстракционно-вольтамперометрического определения в реальных объектах (лекарственных формах и продуктах питания) в присутствии ПАВ;
- вольтамперометрические способы определения природных и синтетических фенольных АО с применением электродов, модифицированных углеродными наноматериалами и ПАВ, их аналитические и метрологические характеристики.

***Степень достоверности и апробация работы.*** Достоверность полученных результатов подтверждается большим объемом экспериментального материала с применением методов электроанализа на современном сертифицированном оборудовании и сопоставлением результатов определений с данными независимых стандартных методов и литературы.

Результаты работы представлены в многочисленных устных и стендовых докладах на всероссийских и международных конференциях: 10<sup>th</sup> Analytical Russian-German-Ukrainian Symposium “ARGUS’2007 – Nanoanalytics” (Saratov, 2007), Менделеевских съездах по общей и прикладной химии (Москва, 2007, Волгоград, 2011), Всероссийских конференциях «Аналитика России» (Краснодар, 2007, 2009), “Химический анализ” (Москва, 2008), конференциях по электрохимическим методам анализа с международным участием “ЭМА” (Уфа, 2008, 2012), International Conference on Electroanalysis “ESEAC” (Prague, 2008, Malmö, 2014), “Аналитика Сибири и Дальнего Востока” (Томск, 2008, Красноярск, 2012), Научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра КГУ “Материалы и технологии XXI века” (Казань, 2009, 2011, 2012), “Современные методы химико-аналитического контроля фармацевтической продукции” (Москва, 2009), International Seminar on Modern Electrochemical Methods (Jetrichovice, 2010), съездах аналитиков России (Москва, 2010, 2013), Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием “АНАЛИТИКА РБ-2010” (Минск, 2010), XI Medzinárodná konferencia “SÚČASNÝ STAV A PERSPEKTÍVY ANALYTICKEJ CHÉMIE V PRAXI” (Bratislava, 2010), симпозиуме с международным участием “Теория и практика электроаналитической химии” (Томск, 2010), международных конференциях “Экстракция органических соединений” (Воронеж, 2008, 2010), International Conference “Renewable Wood and Plant Resources: Chemistry, Technology, Pharmacology, Medicine” (St. Petersburg, 2011), International Congress on Organic Chemistry (Kazan, 2011), международном научном форуме “Бутлеровское наследие” (Казань, 2011, 2015), всероссийских симпозиумах “Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии” (Краснодар, 2011, 2014), V Всероссийской конференции “Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья” (Барнаул, 2012), Heyrovsky Discussions (Brno, 2012, Třešť, 2014), 4<sup>th</sup> EuCheMS Chemistry Congress (Prague, 2012), Annual



Meetings of the International Society of Electrochemistry (Prague, 2012, Lausanne, 2014), всероссийской конференции “Химия и медицина” (Уфа-Абзаково, 2013), международной научно-технической конференции “Нигматуллинские чтения - 2013” (Kazan, 2013), European Conference on Analytical Chemistry “Euroanalysis” (Warsaw, 2013, Bordeaux, 2015) и 26<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis “PBA 2015” (Tbilisi, 2015).

**Публикации.** По результатам диссертации опубликовано 92 работы, в том числе глава в коллективной монографии, 37 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК, из них 19 в зарубежных изданиях, и тезисы 54 докладов (общее число публикаций автора – 259, из них 3 главы в монографиях, 124 статьи (5 обзоров), 11 патентов, 3 методических пособия).

Диссертация выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 09-03-00309-а “Новые электрохимические сенсоры и биосенсоры на основе медиаторных систем для обобщенной оценки объектов сложного состава”, № 12-03-00395-а “Мицеллярные и предорганизованные медиаторные системы для электрохимического определения органических соединений”, № 14-03-31173-мол\_а “Новые аспекты применения электрохимических методов в оценке антиоксидантных свойств пищевых продуктов и лекарственного растительного сырья”), Госбюджетной темы “Антиоксиданты как объекты биоэлектроанализа: новые подходы (2013 г., № 01201364003)” и субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету, для выполнения проектной части государственного задания в сфере научной деятельности (тема “Электрохимический анализ сложных многокомпонентных систем с помощью толстопленочных микрогетерогенных медиаторных систем для контроля качества пищевой продукции”, 2014-2016 гг., № 114090970011).

**Личный вклад автора** заключается в постановке и решении задач, получении экспериментальных данных, их обсуждении, интерпретации и систематизации результатов исследований.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из предисловия, введения, шести глав, заключения, списка литературы и приложения. Она изложена на 380 страницах, содержит 102 таблицы, 85 рисунков и библиографию из 608 наименований.

*Во введении* раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи исследования, сформулированы научная новизна и практическая значимость работы.

*В литературном обзоре* (главе 1) рассмотрены вопросы классификации и свойств АО, в том числе биодоступности фенольных АО в присутствии протеинов. Сделан критический обзор методов электроанализа АО, в частности, способов определения индивидуальных АО и оценки интегральных антиоксидантных показателей, отмечены преимущества химически модифицированных электродов и

проточных методов анализа. Уделено внимание вольтамперометрическому определению АО в присутствии ПАВ.

Во второй главе представлены данные об объектах исследования, используемых методах и приборах, описаны условия проведения эксперимента.

Главы 3-6 посвящены обсуждению полученных результатов.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электрогенерацию брома осуществляли при постоянной силе тока 5.0 мА из 0.2 М  $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{NBr}$  в 0.1 М  $\text{HClO}_4$  в ацетонитриле и 0.2 М  $\text{KBr}$  в 0.1 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Хлор и иод генерировали из водных 0.2 М раствора  $\text{KCl}$  в 0.1 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и 0.1 М раствора  $\text{KI}$  в ацетатном буферном растворе pH 3.56. Электрогенерацию  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов проводили из 0.1 М  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  в 2 М  $\text{NaOH}$ . Конечную точку титрования определяли биамперометрически ( $\Delta E=200$  мВ).

Вольтамперометрические измерения проводили на анализаторе “Экотест-ВА” и потенциостате/гальваностате  $\mu\text{Autolab Type III}$ . В качестве рабочих электродов использовали стеклоуглеродный (СУЭ) и графитовый (ГЭ) электроды. Для модифицирования рабочих электродов методом капельного испарения использовали различные углеродные наноматериалы (МУНТ (Aldrich, Germany), однослойные углеродные нанотрубки, функционализированные карбоксильными группами (ОУНТ- $\text{COOH}$ ) (Sigma-Aldrich, Germany), углеродные нановолокна (УНВ) (Aldrich, Germany) и УНТ, синтезированные методом каталитического пиролиза паров этанола на никелевом катализаторе (ИПТМ РАН, Черноголовка<sup>1</sup>)). Все измерения проводили относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода.

В работе использовали индивидуальные АО различных классов с содержанием вещества 50-99% (Fluka, Sigma, Aldrich, Germany; Reanal, Hungary). Производные гидрохинона, пирокатехина и пропилгаллата синтезированы на кафедре органической химии Уральского федерального университета (Екатеринбург)<sup>2</sup>. Остальные реактивы были марки х.ч. и этанол-ректификат.

Для формирования организованных сред и модификации электродов использовали ПАВ различной природы (анионный додецилсульфат натрия (ДДС), катионные N-додецилпиридиний бромид (ДДПБ) и цетилпиридиний бромид (ЦПБ), неионогенные Brij® 35 и Triton X100, а также неионогенный высокомолекулярный полимер ПЭГ 4000).

Спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре ПЭ-5300 ВИ (НПО «Экрос», Россия).

<sup>1</sup> Предоставлены д.х.н., профессором С.С. Гражулене и д.ф.-м.н., профессором А.Н. Редькиным

<sup>2</sup> Предоставлены д.х.н., профессором Х.З. Брайниной

Состав бренди определяли методом газовой хроматографии на Хроматек-Кристалл 5000.2 (ЗАО СКБ "Хроматэк", Россия) с кварцевой капиллярной колонкой Agilent J&W HP-FFA (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) и пламенно-ионизационным детектором<sup>1</sup>.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### *Вольтамперометрия индивидуальных антиоксидантов на электродах, модифицированных углеродными наноматериалами*

В электроаналитической химии АО в последнее время стали применять химически модифицированные электроды на основе углеродных наноматериалов, в частности, УНТ. Разнообразие УНТ и их свойства можно использовать для управления селективностью и чувствительностью аналитического сигнала АО.

Оценено влияние различных типов УНТ и способов их обработки на морфологию поверхности модифицированных электродов по данным АСМ<sup>2</sup>. Рассмотрим УНТ, синтезированные методом каталитического пиролиза паров этанола на никелевом катализаторе (УНТ I). УНТ II получены дополнительным отжигом УНТ I в атмосфере аргона. СУЭ обладает неструктурированной аморфной поверхностью (Рис. 1А). Нанесение УНТ приводит к изменению структуры поверхности электрода.

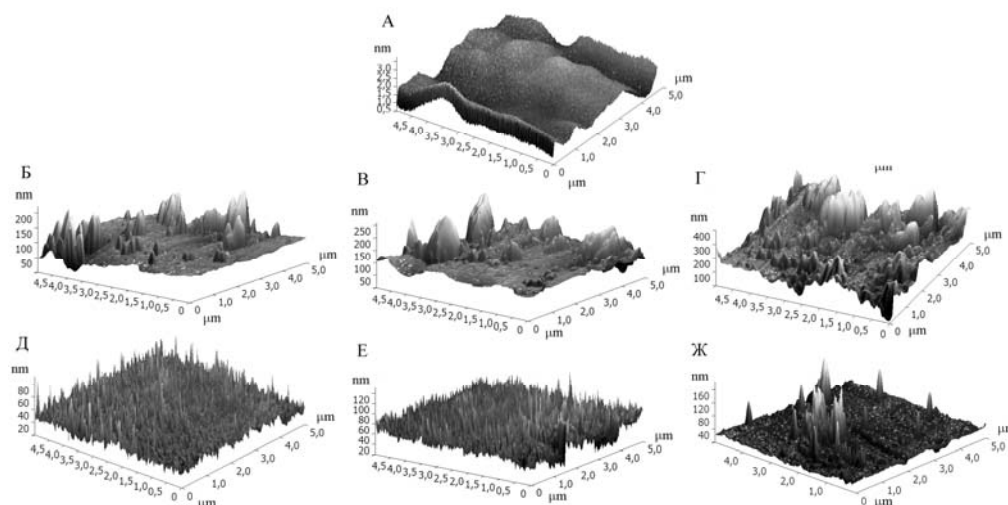


Рис.1 – Морфология поверхности электродов по данным АСМ. А – СУЭ; УНТ I/СУЭ: Б – 0.2; В – 0.5 и Г – 0.7 мг/мл; УНТ II/СУЭ: Д – 0.2; Е – 0.5 и Ж – 0.7 мг/мл.

Независимо от концентрации, слой УНТ I (Рис. 1Б-Г) представляет собой крупные агрегаты, размер которых увеличивается по мере увеличения концентрации наноматериала. Высота некоторых из них достигает 230 нм. В случае УНТ II (Рис. 1Д-Ж) для концентраций 0.2 и 0.5 мг/мл на поверхности электрода наблюдаются

<sup>1</sup> Данные предоставлены М.В. Чибисовой и Н.Н. Скоробогатовой (Федеральное государственное казенное учреждение «Экспертно-криминалистический центр Министерства внутренних дел Российской Федерации», г. Москва)

<sup>2</sup> Выражаю благодарность к.т.н. М.В. Морозову и д.ф.-м.н., профессору А.Х. Гильмутдинову за АСМ исследования

равномерно распределенные иглоподобные шипы высотой 20-70 нм, состоящие их переплетенных между собой нанотрубок. Для  $c = 0.7$  мг/мл наблюдаются крупные агрегаты высотой до 130 нм, суспензия не устойчива и непригодна для модифицирования электродов. Основные характеристики поверхности электродов представлены в Табл. 1.

Таблица 1 – Характеристики поверхности электродов по данным АСМ

Электрод	$c_{\text{МУНТ}}$ , мг/мл	$R_a$ , нм	$R_q$ , нм	$h$ , нм	$l$ , нм	$d$ , нм
СУЭ	0	0.4	0.5	2-3		
УНТ I/СУЭ	0.2	13	23	30-80	-	300-400
	0.5	15	25	60-170	-	300-600
	0.7	40	56	100-230	-	500-1000
УНТ II/СУЭ	0.2	7.9	11	20-35	135-187	32-69
	0.5	9.1	12	50-70	170-200 300-400	29-51
	0.7	7.9	14	100-130	-	250-355

$R_a$  – средняя шероховатость;  $R_q$  – среднеквадратичная шероховатость

Для МУНТ/СУЭ наблюдается структурирование поверхности в виде рядов шириной 0.8-1.0 мкм, каждый из которых содержит возвышения из агрегатов МУНТ высотой 50-586 нм (Рис. 2Б). Средняя шероховатость поверхности МУНТ/СУЭ увеличивается в 190 раз по сравнению с СУЭ (73 нм и 0.4 нм, соответственно). Для СУЭ, модифицированного окисленными МУНТ (Рис. 2В), слой МУНТ<sub>ок</sub> состоит из червеобразных структур средним диаметром 25 нм, которые интенсивно переплетены между собой. Длина некоторых из них достигает 300-700 нм. Средняя шероховатость составляет 6.5 нм, что свидетельствует об увеличении рабочей площади электрода.

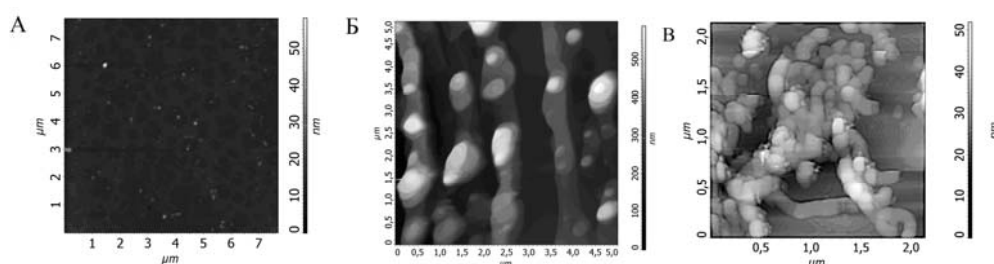


Рис. 2 – Морфология поверхности СУЭ (А), МУНТ/СУЭ (Б) и МУНТ<sub>ок</sub>/СУЭ (В) по данным АСМ.

ГЭ имеет неструктурированную поверхность с небольшими узелками и неравномерно распределенными иглообразными выступами высотой 0.5-3.5 нм (Рис. 3А). Средняя и среднеквадратичная шероховатость поверхности составляет 0.32 и 0.38 нм, соответственно. Для МУНТ<sub>ок</sub>/ГЭ поверхность представляет собой структурированную поверхность, покрытую агрегатами шипообразной формы со средней высотой 10-35 нм (до 100-110 нм для отдельных агрегатов) и диаметром 80-400 нм (Рис. 3Б). Средняя шероховатость поверхности составляет 8.2 нм (среднеквадратичная шероховатость – 11.5 нм).

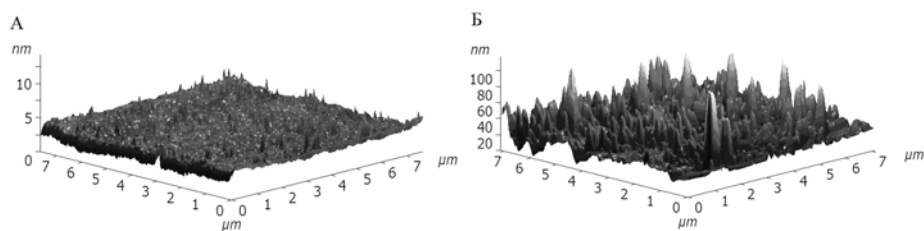


Рис. 3 – АСМ-изображение поверхности ГЭ (А) и МУНТ<sub>ок</sub>/ГЭ (Б).

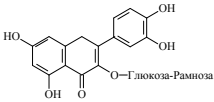
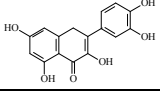
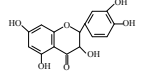
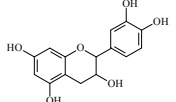
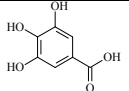
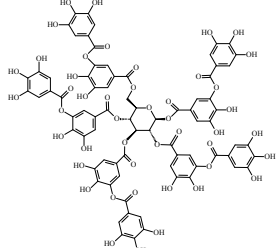
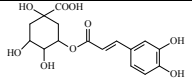
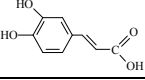
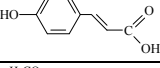
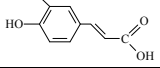
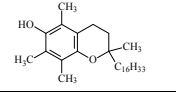
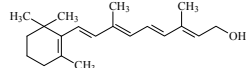
Таким образом, для всех рассмотренных модифицированных электродов наблюдается значительное увеличение шероховатости поверхности и изменение ее структуры. Поверхность таких электродов содержит большое число реакционных центров, которые могут проявлять электрокаталитические свойства по отношению к окислению АО.

Рассмотрено электроокисление широкого круга АО различной природы (фенольных, серосодержащих и жирорастворимых) на созданных электродах. Соответствующие вольтамперные характеристики представлены в табл. 2.

Таблица 2 – Вольтамперные характеристики АО на СУЭ и УНТ/СУЭ

Соединение	Структура	Фоновый электролит	E, V		$I_{\text{мод}}/I$
			СУЭ, ГЭ*	УНТ/СУЭ <sup>а</sup>	
1	2	3	4	5	6
I		Фосфатный буферный раствор pH 7.4	+ 0.25	+ 0.12	2.0
II			+ 0.40; 0.66	+ 0.37; 0.70	1.4
III			+0.20	+0.15	1.6
IV			+ 0.24; 0.46	+ 0.23; 0.44	1.0
V			+ 0.23; 0.45	+ 0.23; 0.46	1.3
VI			+ 0.64	+ 0.53	1.0
VII			+ 0.03; 0.27; 0.75	0; 0.17; 0.69	3.0
VIII			+ 0.16; 0.50	+ 0.03; 0.37	1.6
IX			+ 0.11; 0.48	+ 0.11; 0.46	1.3
X			+ 0.13; 0.74	+ 0.04; 0.65	1.6
XI			+ 0.32; 0.58	+ 0.59; 0.78	4.0
XII			+ 0.18; 0.6	+ 0.1; 0.54	1.6
XIII			+ 0.29; 0.63	+ 0.08; 0.56	1.4

Продолжение таблицы 2.

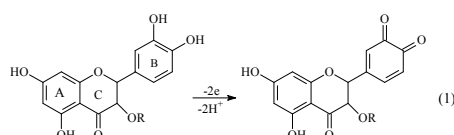
1	2	3	4	5	6
Рутин		Фосфатный буферный раствор рН 7.4	+0.26 ; 0.86	+0.26 ; 0.86	3.0
Кверцетин			+0.23; 0.80	+0.23; 0.80	3.0
Таксифолин			+0.22; 0.80	+0.22; 0.80	2.0
Катехин			+0.23; 0.57	+0.21; 0.56	3.5
Галловая кислота			+0.32; 0.66	+0.26; 0.63	3.5
Танин			+0.24; 0.37	+0.22; 0.34	4.0
Хлорогеновая кислота			+0.49	+0.26	2.4
Кофейная кислота			+0.59	+0.30	3.0
<i>n</i> -Кумаровая кислота			—	+0.53	—
Феруловая кислота			+0.52	+0.42; 0.50	1.7
Цистеин	$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	0.1 М H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	+ 1.00	+ 0.80	5.0
Глутатион	$\text{HOOC}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}}{\text{CH}}(\text{HNOC})-\text{CH}_2\text{SH}$		—	+ 0.65	—
Метионин	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$		—	+ 0.80	—
Унитиол	$\text{CH}_2-\underset{\text{SH}}{\text{CH}}-\underset{\text{SH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$		—	+0.60	—
$\alpha$ -Липоевая кислота	$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{S}}{\text{CH}}-(\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$		+0.91	+0.81	1.6
$\alpha$ -Токоферол		0.1 М HClO <sub>4</sub> в ацетонитриле	+0.52; 0.91 *	+0.32; 0.60	2.0
Ретинол			+0.87; 1.12 *	+0.83; 1.10	2.3

<sup>a</sup> УНТ(II)/СУЭ для соединений I-XIII, МУНТ/СУЭ для природных фенольных АО, МУНТок/СУЭ для серосодержащих АО и МУНТок/ГЭ для  $\alpha$ -токоферола и ретинола.

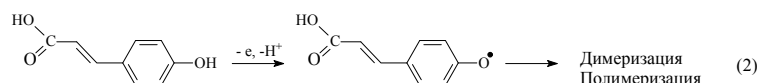
Установлено, что рассматриваемые АО электрохимически активны на СУЭ (или ГЭ) и УНТ-модифицированных электродах за исключением *n*-кумаровой кислоты и ряда серосодержащих АО, которые окисляются в доступной области потенциалов

лишь на модифицированных электродах. Модифицирование поверхности электрода приводит к значительному улучшению формы вольтамперограмм и уменьшению разности потенциалов анодных и катодных пиков (например, на 470 мВ для хлорогеновой и 520 мВ для кофейной кислот), что свидетельствует о повышении степени обратимости электрохимических систем. В большинстве случаев наблюдается уменьшение перенапряжения (на 20-290 мВ) и значительное увеличение токов окисления аналитов по сравнению с немодифицированным электродом, что объясняется увеличением скорости переноса электрона и эффективной площади поверхности модифицированного электрода, соответственно. Кроме того, электрокаталитическое действие МУНТ<sub>ок</sub> связано с присутствием на концах и стенках УНТ кислородсодержащих функциональных групп (карбоксильных и гидроксильных), образующихся в результате кислотной обработки УНТ при получении суспензий.

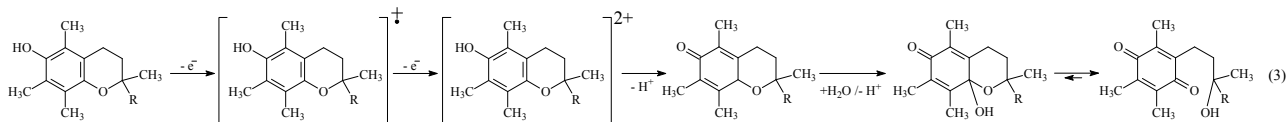
Окисление флавоноидов протекает с участием гидроксильных групп кольца В до соответствующих *o*-хинонов согласно схеме 1.



Галловая кислота, гидрохинон, пирокатехин и их производные, хлорогеновая, кофейная и феруловая кислоты окисляются по двухэлектронному механизму до соответствующих *o*-хинонов. Окисление *n*-кумаровой кислоты приводит к образованию феноксильного радикала, который затем может вступать в реакции димеризации и полимеризации (схема 2).



Окисление цистеина, глутатиона и унитиола протекает с образованием дисульфидов, а липоевой кислоты – с разрывом дисульфидной связи, как и в случае цистина. Метионин, вероятно, окисляется до сульфоксида.  $\alpha$ -Токоферол достаточно легко окисляется по двухэлектронному механизму с образованием *n*-токоферилхинона (схема 3).



Две ступени окисления на вольтамперограммах ретинола соответствуют образованию ретиналя и ретиноевой кислоты, что косвенно подтверждается примерно равными высотами ступеней окисления

Токи окисления АО линейно зависят от их концентрации. Коэффициенты корреляции градуировочных зависимостей лежат в диапазоне 0.9938-0.9999.

Аналитические характеристики определения представлены в табл. 3. Использование модифицированных электродов на основе УНТ позволяет значительно улучшить аналитические характеристики определения АО различной природы: понизить ПрО и расширить диапазоны их определяемых содержаний.

Таблица 3 – Аналитические характеристики вольтамперометрического определения АО на УНТ-модифицированных электродах

Класс АО	Аналит	ПрО, мкМ		Диапазон определяемых концентраций, мкМ	
Синтетические фенольные АО		<b>СУЭ</b>	<b>УНТ II/СУЭ</b>	<b>СУЭ</b>	<b>УНТ II/СУЭ</b>
	I	3.90	2.90	3.90-1360	2.90-1430
	II	14.4	10.1	28.7-193	11.5-722
	III	7.33	1.47	14.7-688	3.67-1290
	IV	1.79	1.57	2.24-280	1.79-420
	V	5.81	0.29	5.06-100	0.29-182
	VI	10.6	2.12	10.6-1320	2.12-1320
	VII	33.2	20.0	66-440	66-1660
	VIII	3.8	1.90	3.8-1900	1.9-671
	IX	1.44	0.73	1.44-1830	1.83-1290
	X	3.36	0.67	3.36-1680	1.68-1680
	XI	3.36	0.67	3.36-630	0.67-1680
	XII	1.43	1.78	1.43-1780	1.78-1780
	XIII	1.61	0.81	1.61-2020	2.02-756
Природные фенольные АО		<b>СУЭ</b>	<b>МУНТ/СУЭ</b>	<b>СУЭ</b>	<b>МУНТ/СУЭ</b>
	Кверцетин	10	1.0	20-80	2.0-220
	Таксифолин	5.2	0.26	21-306	0.52-210
	Рутин	5.4	0.71	7.1-280	1.4-28; 28-210
	Катехин	3.1	1.2	12-120	1.7-8.5; 8.7-170
	Галловая кислота	20	6.0	39-290	9.9-99; 100-910
	Танин	5.0	2.0	10-100	4-39; 40-390
Серосодержащие АО		<b>СУЭ</b>	<b>МУНТ<sub>ок</sub>/СУЭ</b>	<b>СУЭ</b>	<b>МУНТ<sub>ок</sub>/СУЭ</b>
	Цистеин	107	64	220-1800	75-1900
	Глутатион	—	—	43	76-1800
	Метионин	—	—	270	360-2600; 3300-6900
	Липоевая кислота	19	19	37-350 420-780	26-180; 210-780
	Унитиол	—	—	41	180-1400; 2600-6900
Жирорастворимые АО		<b>ГЭ</b>	<b>МУНТ<sub>ок</sub>/ГЭ</b>	<b>ГЭ</b>	<b>МУНТ<sub>ок</sub>/ГЭ</b>
	$\alpha$ -Токоферол	160	220-1340	50	65-2000
	Ретинол	95	130-1200	40	50-1500

Предложенные подходы апробированы на модельных растворах АО. Мера правильности составляет  $100 \pm 2$  %, что позволяет использовать методы для анализа реальных объектов.

Разработаны способы вольтамперометрического определения АО в лекарственных формах. Результаты хорошо воспроизводятся и согласуются с данными независимого кулонометрического определения (табл. 4).



Таблица 4 – Результаты определения АО в лекарственных формах ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Объект анализа	Аналит	Содержание, мг, *%	Найдено вольтамперометрически, мг, *%	$s_r$	Найдено кулонометрически, мг, *%	$s_r$	$F$ -кр. <sup>а</sup>	$t$ -кр. <sup>б</sup>
Рутин, таблетки	Рутин	20	20±1	0.052	20±2	0.068	1.99	0.844
Аскорутин, таблетки	Рутин	50	50±1 50.8±0.8	0.021 0.013	50±3 51.0±2.0	0.049 0.024	2.30 3.49	0.652 0.263
Кверцетин, таблетки	Кверцетин	20	18.6±0.9	0.048	18.5±0.4	0.021	5.49	0.204
Антистакс, капсулы	Кверцетин	-	10.6±0.6	0.055	-	-	-	
Капилар, таблетки	Дигидрокверцетин	10	10.0±0.4	0.038	9.7±0.4	0.034	1.01	1.20
Окулист ТМ, капсулы	Дигидрокверцетин	15	14.7±0.8	0.051	-	-	-	
Унитиол, раствор для инъекций	Унитиол	250	247±3	0.012	249±5	0.019	2.78	0.773
Липоевая кислота, таблетки	$\alpha$ -Липоевая кислота	12	11.9±0.2	0.016	12.0±0.4	0.032	4.00	0.532
		25	24.8±0.6	0.022	24.4±0.5	0.020	1.44	1.56
Метионин, таблетки	Метионин	250	250±2	0.0082	252±9	0.031	12.6	0.486
			248±2	0.0079	246±9	0.034	10.1	0.670
			247±3	0.011	246±5	0.020	4.71	0.161
Раствор $\alpha$ -токоферола ацетата в масле	$\alpha$ -Токоферол	10*	9.8±0.3*	0.026	10.0±0.5	0.048	5.56	0.820
		30*	29.5±0.5* 29.9±0.2*	0.014 0.0060	29±1* 29.5±0.9*	0.032 0.030	2.78 1.49	0.687 1.53
Раствор ретинола ацетата в масле	Ретинол	3.34*	3.32±0.03*	0.0069	3.3±0.1*	0.028	11.1	0.433
Раствор ретинола пальмитата в масле	Ретинол	5.55*	5.51±0.03*	0.0048	5.5±0.1*	0.016	5.62	0.291

<sup>а</sup> $t_{\text{крит}}=2.31$  при  $P=0.95$  и  $df=8$ <sup>б</sup> $F_{\text{крит}}=6.39$  при  $P=0.95$  и  $df_1=4$ ,  $df_2=4$ 

Полученные содержания не выходят за рамки допустимых отклонений. Величина  $s_r$  не превышает 6%. Значения  $t$ -критериев свидетельствуют об отсутствии систематических погрешностей в определениях. Рассчитанные значения  $F$ -критериев меньше критических значений, что говорит о равнозначности методов. Исключение составляют таблетки метионина и раствор ретинола ацетата в масле, для которых вольтамперометрия характеризуется большей точностью. Разработанные способы определения АО могут успешно применяться в фармацевтическом анализе как альтернатива существующим методикам.

### **Гальваностатическая кулонометрия индивидуальных антиоксидантов**

Установлены стехиометрические коэффициенты реакций синтетических и природных фенольных АО с электрогенерированными титрантами (галогенами и

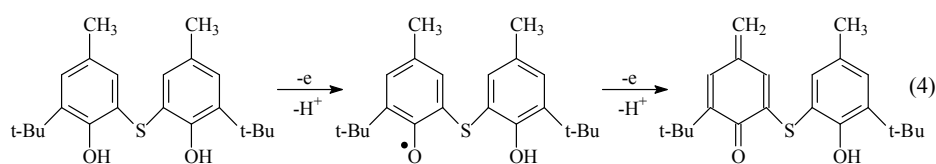
$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами) в условиях гальваностатической кулонометрии. Реакции синтетических водорастворимых АО (ди- и тригидроксибензолов) с электрогенерированными галогенами протекают стехиометрично с участием большого числа электронов (табл. 5). При этом в первую очередь идут реакции окисления ОН-групп, а также реакции электрофильного замещения. Кроме того, возможно протекание последующих реакций с участием первичных образующихся продуктов. В реакции с  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами вступают главным образом ОН-группы.

Таблица 5 – Число электронов, участвующих в реакциях синтетических водорастворимых фенольных АО с электрогенерированными титрантами

Соединение	Число электронов		
	$\text{Cl}_2$	$\text{Br}_2$	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$
I	2	2	2
II	12	7	4
III	2	2	2
IV	9	7	4
V	9	7	4
VI	12	7	4
VII	2	2	2
VIII	8	5	2
IX	8	5	2
X	6	3	2
XI	8	5	2
XII	2	2	2
XIII	4	4	2

Гидрохинон, пирокатехин и пирогаллол окисляются  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами до *n*- и *o*-бензохинонов, соответственно. Для соединений II, IV, V, VI число электронов больше, чем можно предполагать исходя из числа гидроксильных групп (4е, а не 2е), что можно связать с присутствием в структуре этих соединений карбонильной и тиосульфатной групп. Соединения VIII-XIII окисляются с участием 2 электронов, как и пирогаллол.

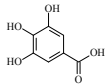
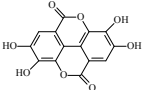
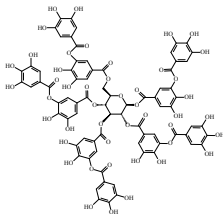
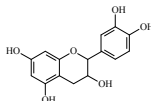
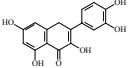
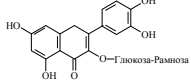
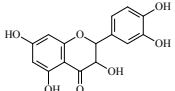
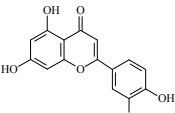
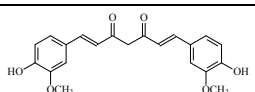
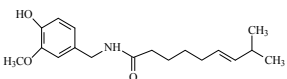
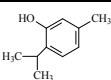
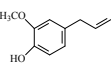
ПЗФ (*трет*-Бутилгидрокситолуол, Irganox<sup>®</sup> 1081, 2,6-дитрет-бутил-4-β,β-диацетилэтилфенол, 2,6-дитрет-бутил-4-диметиламинометилфенол, 2,6-дитрет-бутил-4-(N,N-бис-β-оксиэтил-амино)метилфенол и медиборол) за исключением медиборола взаимодействуют с  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами с участием двух электронов, окисляясь до соответствующих метиленхинонов. В случае Irganox<sup>®</sup> 1081 окисляется только один фенольный фрагмент согласно схеме 4.



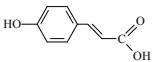
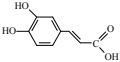
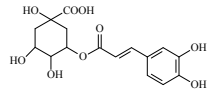
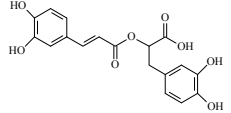
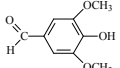
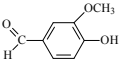
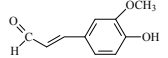

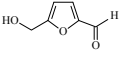
Оценена интегральная АОЕ ди- и тригидроксibenзолов по реакции с электрогенерированным бромом. Показано, что интегральная АОЕ гидрохинона, пирокатехина и пирогаллола одинакова. Производные пирокатехина и гидрохинона обладают наибольшей АОЕ, что связано с присутствием тиосульфатного остатка, а также пирролидинового и пиперидинового фрагментов в их структуре.

Изучены реакции электрогенерированных брома, иода и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов с природными фенольными АО (табл. 6.). Электрогенерированный иод не взаимодействует с фенольными АО.

Таблица 6 – Число электронов, участвующих в реакциях природных фенольных АО с электрогенерированными титрантами

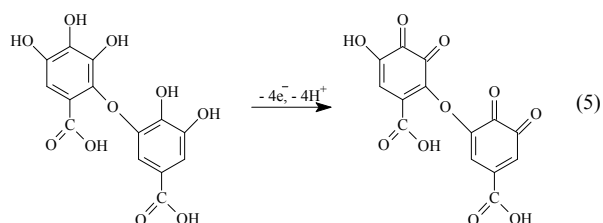
Соединение	Структурная формула	Число электронов	
		$\text{Br}_2$	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$
1	2	3	4
Галловая кислота		4	4
Эллаговая кислота		4	4
Танин		30	25
Катехин		4	4
Кверцетин		4	4
Рутин		4	4
Таксифолин		6	4
Лютеолин		8	4
Куркумин		10	5
Капсаицин		6	1
Тимол		4	1
Эвгенол		6	1

Продолжение таблицы 6

1	2	3	4
<i>n</i> -Кумаровая кислота		6	1
Кофейная кислота		4	2
Хлорогеновая кислота		4	2
Розмариновая кислота		6	4
Сиреневый альдегид		2	-
Ванилин		2	-
Кониферальдегид		5	-
Фурфураль		-	-
5-Гидроксиметил-фурфураль		1	-

Установлено, что электрогенерированный бром быстро и количественно реагирует с исследуемыми соединениями за исключением фурфурала. Он вступает в реакции окисления, а также электрофильного присоединения по кратным связям и замещения в ароматическое кольцо, что объясняет большое число электронов, участвующих в реакциях с исследуемыми АО. Окисление гидроксильных групп с образованием соответствующих хинонов протекают, вероятно, в первую очередь. Для флавоноидов (катехина, рутина, лютеолина и кверцетина) сначала окисляются гидроксильные группы кольца В. Галловая кислота окисляется до *o*-хинона, который может принимать участие в последующих реакциях конденсации и димеризации. Эллаговая кислота окисляется с образованием ди-*o*-хинона. Ванилин и сиреневый альдегид окисляются до *o*-хинонов. В случае кониферальдегида реакция протекает с участием 5 электронов. При этом, вероятно, происходит окисление до *o*-хинонового фрагмента, а также возможны реакции электрофильного присоединения по кратной связи и замещения в ароматическом кольце. 5-Гидроксиметилфурфураль, вероятно, вступает в реакцию с радикальными частицами брома с образованием относительно стабильного радикала.

Реакции  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов с АО протекает с участием их гидроксильных групп. Галловая кислота в щелочной среде при  $\text{pH} > 11$  в присутствии кислорода воздуха димеризуется с образованием дегидродигалловой кислоты, которая затем окисляется до соответствующего ди-*o*-хинона (схема 5).



В реакциях монофенолов (тимола, эвгенола и *n*-кумаровой кислоты) участвует один электрон, что соответствует образованию относительно стабильного феноксильного радикала. Число электронов для танина совпадает с числом ОН-групп в молекуле. Флавоноиды окисляются за счет ОН-групп в ароматических кольцах. На примере рутина (гликозида кверцетина) показано, что гликозидный фрагмент не взаимодействует с титрантом. В щелочной среде куркумин неустойчив и разрушается с течением времени до ферулоилметана и феруловой кислоты. Хлорогеновая, кофейная и розмариновая кислоты окисляются с участием ОН-групп с образованием соответствующих *o*- и ди-*o*-хинонов.

Учитывая полученные данные,  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионы как кулонометрический титрант представляют наибольший интерес, поскольку являются одноэлектронными окислителями и проявляют большую селективность по отношению к фенольным АО. Кроме того, одноэлектронные реакции, как правило, не имеют сопутствующих стадий, осложняющих процесс.

Правильность количественного определения природных фенольных АО оценена по методу “введено” – “найдено” при титровании модельных растворов. Мера правильности составляет 97-102%, величина  $s_r$  не превышает 3%, что свидетельствует об отсутствии случайной погрешности определения.

Подход применен для прямого определения фенольных АО в лекарственных формах (Табл. 7). Показано, что вспомогательные компоненты таблеточной массы не оказывают мешающего влияния.

Таблица 7 – Результаты кулонометрического определения АО в лекарственных формах ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Объект анализа	Аналит	Содержание, мг	Найдено, мг	$s_r$
Рутин, таблетки	Рутин	20	$20 \pm 2$	0.068
Кверцетин, таблетки	Кверцетин	20	$16.6 \pm 0.4$	0.025
Аскорутин, таблетки	Рутин	50	$50 \pm 3$	0.049
	Аскорбиновая кислота	50	$51 \pm 2$	0.039
			$51 \pm 1$	0.017
Капилар, таблетки	Дигидрокверцетин	10	$49.3 \pm 0.8$	0.013
			$9.7 \pm 0.4$	0.034

Варьирование титрантов (иода и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов) позволяет определить рутин и аскорбиновую кислоту при совместном присутствии. Разработанный способ характеризуется высокой точностью и простотой выполнения, что позволяет

рекомендовать его в качестве альтернативы стандартным фармакопейным методам, основанным на классическом титровании.

Как известно, природные фенольные АО взаимодействуют с протеинами, что приводит к изменению антиоксидантных свойств фенольных соединений. Разработка новых способов оценки взаимодействий фенольных АО с протеинами представляет интерес. Учитывая реакционную способность фенольных АО к электрогенерированным титрантам (бromу и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионам), гальваностатическая кулонометрия предложена для оценки *in vitro* биодоступности фенольных АО, которая выражается как доля свободного фенольного АО. Подход апробирован на примере систем фенольный АО – протеин, в частности, смесей рутина, кверцетина и таксифолина с молочными протеинами (казеином, БСА и  $\beta$ -лактоглобулином). Показано, что при увеличении доли протеина в смеси содержание свободных фенольных АО уменьшается (Рис. 4), что свидетельствует об их превращении в неактивные формы. При этом рутин связывается протеинами в меньшей степени, чем кверцетин и таксифолин. Это, вероятно, связано с присутствием гликозидного остатка в положении 3 кольца С.  $\beta$ -Лактоглобулин связывает фенольные АО в меньшей степени, чем казеин и БСА, причем для кверцетина и таксифолина различие статистически незначимо.

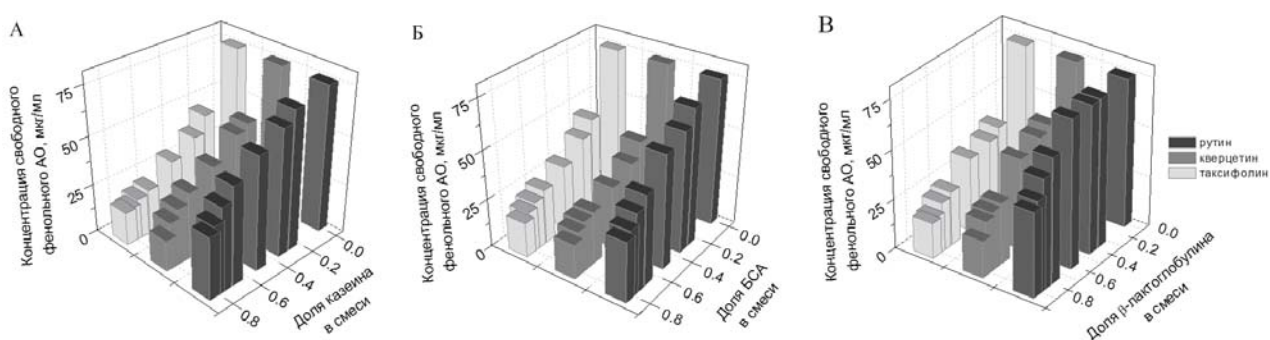


Рис. 4 – Содержание свободного фенольного АО в зависимости от доли казеина (А), БСА (Б) и  $\beta$ -лактоглобулина (В) в смеси. Титрант – электрогенерированные  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионы.

Результаты, полученные с применением электрогенерированных брома и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов, практически не отличаются, различие находится в пределах доверительных интервалов значений. Связывание реализуется за счет водородных связей, гидрофобного и электростатического взаимодействий, вклад каждого из которых может меняться в зависимости от структуры фенольных АО и природы протеинов. На примере смесей кверцетина с казеином показано, что взаимодействие протекает с высокой скоростью и не изменяется во времени.

Гальваностатическая кулонометрия с электрогенерированными титрантами может успешно использоваться для оценки *in vitro* биодоступности фенольных АО в присутствии протеинов.

### ***Электрохимическая оценка антиоксидантной емкости продуктов питания***

В настоящее время все большее внимание уделяется так называемым интегральным показателям, позволяющим охарактеризовать объект как единое целое, не прибегая к покомпонентному анализу. Применительно к АО такой подход особенно привлекателен, поскольку продукты питания содержат, как правило, широкий круг соединений с антиоксидантными свойствами, и интегральные показатели позволяют учесть возможные синергетические или антагонистические эффекты отдельных соединений, а, следовательно, прогнозировать биологическую активность объекта анализа в целом. Представляет интерес разработка новых способов электрохимической оценки АОЕ продуктов питания.

**Антиоксидантная емкость специй.** Учитывая состав специй, можно считать, что наибольший вклад среди АО вносят фенольные соединения, которые легко окисляются в реакциях с электрогенерированными окислителями в условиях гальваностатической кулонометрии, а также на поверхности электродов в условиях вольтамперометрии. В качестве параметров, характеризующих антиоксидантные свойства специй, выбраны ЖВС и АОЕ.

Для извлечения АО из специй использовали жидкостную экстракцию этанолом и метанолом. Установлено, что однократная экстракция этанолом в течение 10 мин позволяет провести количественное извлечение компонентов. Соотношение сырье/экстрагент, обеспечивающее максимальное извлечение, варьируется в зависимости от типа специй. Полноту извлечения контролировали кулонометрически по реакции с электрогенерированными  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами. Метанольные экстракты специй получали экстракцией в течение двух суток при соотношении сырье/экстрагент 1:12 для орегано, базилика и лаврового листа и 1:6 для остальных специй<sup>1</sup>.

Оценена ЖВС экстрактов специй, которую выражали в пересчете на 1 г сухой специи (Табл. 7). Метанольные экстракты характеризуются более высокими значениями ЖВС и различие статистически значимо, что связано с экстракционными свойствами метанола и временем экстракции, а также более высокой растворимостью многих АО в метаноле, чем в этаноле. Кроме того, метанол ингибирует полифенолоксидазы, предотвращая окисление фенольных АО в растительных материалах<sup>2</sup>. Максимальная ЖВС характерна для корицы, гвоздики и розмарина независимо от экстрагента. Для дальнейших исследований использовали метанольные экстракты.

<sup>1</sup> Oya T., Osawa T., Kawakishi S. Spice constituents scavenging free radicals and inhibiting pentosidine formation in a model system // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 1997. – V. 61. – № 2. – P. 263.

<sup>2</sup> Paneerchelvan S., Lai H.-Y., Kailasapathy K. Antioxidant, antibacterial and tyrosinase inhibiting activities of extracts from *Myristica fragrans* Houtt. // Eur. J. Med. Plants. – 2015. – V. 8. – № 1. – P. 39

Таблица 7 – ЖВС специй ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Специя	Торговая марка	$V(C_2H_5OH)$ на 1 г специи, мл	ЖВС, Кл/г			
			Этанольный экстракт	$s_T$	Метанольный экстракт	$s_T$
Корица	“Appetita”	4	$42.3 \pm 0.2$	0.004	$137 \pm 3$	0.018
Гвоздика	“Appetita”	2	$13.3 \pm 0.2$	0.013	$64 \pm 2$	0.026
Розмарин	“Appetita”	6	$7.44 \pm 0.08$	0.009	$37 \pm 2$	0.037
Куркума	M&S	6	$11.0 \pm 0.9$	0.067	$14.5 \pm 0.3$	0.014
Кумин	“Магия востока”	2	$4.5 \pm 0.2$	0.032	$8.8 \pm 0.2$	0.019
Орегано	“Galeo”	6	$3.69 \pm 0.08$	0.017	$18.1 \pm 0.5$	0.022
Имбирь	“Magic tree”	2	$2.80 \pm 0.09$	0.025	$5.9 \pm 0.2$	0.029
Ягоды можжевельника	“Appetita”	2	$1.68 \pm 0.04$	0.014	$7.7 \pm 0.1$	0.013
Перец красный	“Galeo”	6	$1.55 \pm 0.03$	0.017	$1.8 \pm 0.1$	0.057
Мускатный орех	“Interjarek”	6	$1.40 \pm 0.06$	0.032	$25 \pm 1$	0.032
Перец красный сладкий	“Magic tree”	2	$0.94 \pm 0.01$	0.012	$2.02 \pm 0.08$	0.031
Перец черный	“Galeo”	2	$0.94 \pm 0.07$	0.065	$3.2 \pm 0.2$	0.040
Базилик	“Appetita”	6	$0.79 \pm 0.04$	0.036	$9.4 \pm 0.3$	0.022
Кориандр	“Appetita”	4	$0.54 \pm 0.03$	0.044	$2.0 \pm 0.1$	0.044

Установлено, что на циклических вольтамперограммах метанольных экстрактов специй на СУЭ на фоне 0.1 М  $LiClO_4$  в этаноле наблюдаются ступени и пики окисления, потенциалы и площадь которых зависят от вида специи (Рис. 5).

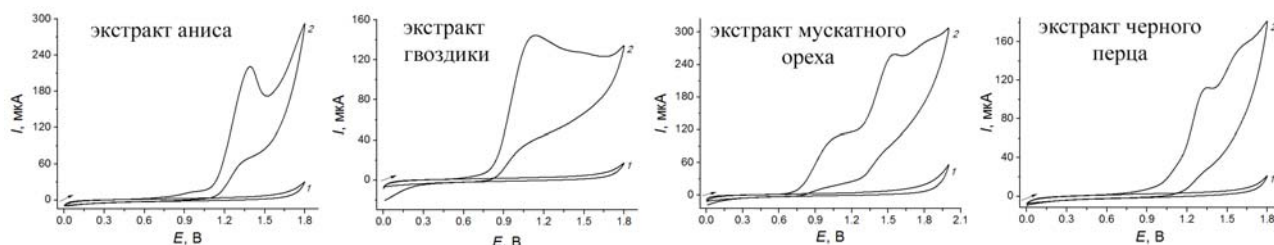


Рис. 5 – Циклические вольтамперограммы метанольных экстрактов специй (кривая 2) на СУЭ на фоне 0.1 М  $LiClO_4$  в этаноле (кривая 1).  $v = 0.75$  В/с.

На основе литературных данных о составе специй и потенциалов окисления их индивидуальных АО (галловой и розмариновой кислот, тимола, эвгенола и капсаицина), оценены их вклады в аналитические сигналы специй методом стандартных добавок. Для большинства из них наблюдается пропорциональное увеличение площадей соответствующих ступеней окисления. Исходя из величин степени открытия, можно сделать вывод, что аналитические сигналы экстрактов специй носят интегральный характер.

АОЕ специй оценивали по интегральной площади ступеней окисления и выражали в ее эквивалентах в пересчете на 1 г специи (Табл. 8). Полученные значения АОЕ обусловлены присутствием АО различных классов, входящих в состав



специй. При этом на вольтамперограммах проявляют себя лишь те АО, содержание которых достаточно велико.

Таблица 8 – АОЕ экстрактов специй по данным ЦВА ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Специя	Торговая марка	АОЕ, мг галловой кислоты/г	$s_f$
Гвоздика	“Appetita”	191.0±0.5	0.0011
Ягоды можжевельника	“Appetita”	82±3	0.031
Мускатный орех	“Interjarek”	55±2	0.016
Корица	“Appetita”	42±4	0.093
Розмарин	“Appetita”	30.2±0.4	0.0058
Анис	“Appetita”	20±1	0.020
Орегано	“Galeo”	19.5±0.8	0.016
Черный перец	“Волшебное дерево”	15.5±0.3	0.0081
Имбирь	“Волшебное дерево”	13.8±3	0.079
Базилик	“Appetita”	11.5±0.4	0.015
Куркума	M&S	8.2±0.5	0.026
Красный перец	“Galeo”	6.2±0.2	0.016
Лавровый лист	“Магия востока”	6.0±0.1	0.0067
Кориандр	“Appetita”	5.7±0.2	0.011
Красный перец сладкий	“Волшебное дерево”	5.6±0.1	0.0094
Кумин	“Магия востока”	2.84±0.04	0.0054
Тмин	“Волшебное дерево”	1.4±0.2	0.068

В целом, полученный ряд АОЕ согласуется с данными по ЖВС. Отличие для корицы, связано, с тем, что один из основных ее компонентов эвгенол не проявляет себя на вольтамперограммах ее экстракта, но вносит вклад в ЖВС. АОЕ специй обусловлена присутствием главным образом фенольных АО различных классов.

Для валидации разработанного подхода полученные данные по АОЕ и ЖВС были сопоставлены с другими параметрами, характеризующими антиоксидантные свойства специй: интегральной АОЕ по реакции с электрогенерированным бромом, антиоксидантной активностью (АОА) по реакции с 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом и общим содержанием фенольных соединений по Фолину-Чокальтеу (ОФ). Установлено, что все рассматриваемые показатели хорошо коррелируют между собой ( $r = 0.8886 - 0.9615$  при  $r_{\text{крит}} = 0.482$ ,  $P=0.95$ ).

**Интегральная антиоксидантная емкость и железовосстанавливающая способность чая и кофе.** Оценены антиоксидантные свойства чая и кофе по реакциям с электрогенерированными бромом и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами (Табл. 9 и 10). Интегральная АОЕ чая статистически достоверно выше, чем ЖВС, что объясняется реакционной способностью используемых титрантов. ЖВС обусловлена фенольными АО, взаимодействующими с  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами. Электрогенерированный бром является более активным и сильным окислителем, что позволяет охватить широкий круг АО различной природы, в том числе и высокомолекулярные АО, например, альбумины и глютенины, входящие в состав чая.

Таблица 9 – Интегральная АОЕ и ЖВС чая ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Объект анализа	Тип	Интегральная АОЕ, Кл/250 мл	$s_r$	ЖВС, Кл/250 мл	$s_r$
Принцесса “Ява”, Эрл Грей	Листовой	645±9	0.011	277±5	0.013
Чай английский		315±17	0.043	136±2	0.012
“Greenfield Delicate”, Keemun	Пакетики	485±17	0.028	224±3	0.012
“Ahmad”, English Tea № 1		790±17	0.017	405±14	0.028
Принцесса “Нури” с бергамотом		625±11	0.014	273±3	0.009
Принцесса “Канди”		630±26	0.033	270±2	0.007
“Ahmad”, London Tea		740±47	0.051	321±4	0.011
“Ahmad”, Earl Grey		780±25	0.029	339±3	0.008
“Riston”, Premium English Tea		700±31	0.036	304±3	0.007
“Akbar”, зеленый чай	Листовой	915±17	0.015	333±8	0.021
Принцесса “Ява”, зеленый чай		765±28	0.029	278±5	0.025
“Ahmad”, Jasmine Green Tea		1028±15	0.015	374±9	0.018
“Greenfield”, Green Mellissa	Пакетики	698±13	0.015	250±5	0.018
“Hyleys”, English green tea		818±14	0.014	299±2	0.006

Таблица 10 – Интегральная АОЕ и ЖВС кофе ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Объект анализа	Тип	Интегральная АОЕ, Кл/125 мл	$s_r$	ЖВС, Кл/125 мл	$s_r$
Арабика “Традиция”	Зерна	219±8	0.029	241±3	0.009
“Paulig” Vending Espresso Aroma		275±8	0.023	283±7	0.019
“Dallmayr” Promodo	Молотый	290±4	0.012	259±4	0.013
“Жокей” традиционный		345±7	0.016	331±5	0.013
“Grandos” Exclusive	Растворимый сублимированный	539±9	0.013	441±10	0.019
“Grandos” Egoiste Noir		525±5	0.008	488±16	0.026
“Nescafe” Cap Colombie		531±8	0.012	335±7	0.017
“Carte Noire”		334±7	0.017	337±6	0.013
“Vipcafe” Black Label		394±8	0.016	344±8	0.018
“Жокей” Триумф		398±9	0.018	344±8	0.018
“Jacobs” Monarch		404±7	0.014	455±7	0.011
“Tchibo” Exclusive		375±13	0.033	291±4	0.011
“Ambassador” Adora		435±7	0.013	336±3	0.008
“Moccona” Excellent	Растворимый гранулированный	431±5	0.010	331±4	0.011
“Maxwell House”		375±11	0.024	294±3	0.008
“Nescafe” Classic		408±7	0.013	311±2	0.006
“Dancafe”		385±4	0.009	334±10	0.025

Для кофе различие в интегральное АОЕ и ЖВС статистически недостоверно (для некоторых образцов зернового кофе параметры практически совпадают в пределах погрешностей измерения). Это обусловлено АО кофе, в частности, хлорогеновыми кислотами и меланоидинами, сходным образом взаимодействующими с титрантами.

Оба антиоксидантных параметра увеличиваются в ряду кофе в зернах < растворимый гранулированный < растворимый сублимированный, что связано с технологическими процессами получения растворимого кофе, в частности, стадией дегидратации кофейного экстракта, приводящей к концентрированию компонентов.

Установлены положительные корреляции интегральной АОЕ и ЖВС чая и кофе ( $r = 0.8666$  для чая ( $r_{\text{крит}}=0.532$ ) и  $0.8366$  для кофе ( $r_{\text{крит}}=0.482$ ) при  $P=0.95$ ).

Оценена ЖВС чая и кофе в присутствии молока. При этом параметр ЖВС отражает содержание свободных фенольных АО в напитках и позволяет косвенно оценить их *in vitro* биодоступность. Напитки с молоком ( $\omega_{\text{жира}}=2.5\%$ ) готовили по объемным соотношениям (доля молока составила 5, 20, 50 и 70 %). Собственная ЖВС молока (с учетом доли молока в смесях) пренебрежимо мала по сравнению с ЖВС чая и кофе. Титрование чая и кофе с молоком показало, что их ЖВС статистически значительно уменьшается в присутствии молока (Рис. 6).

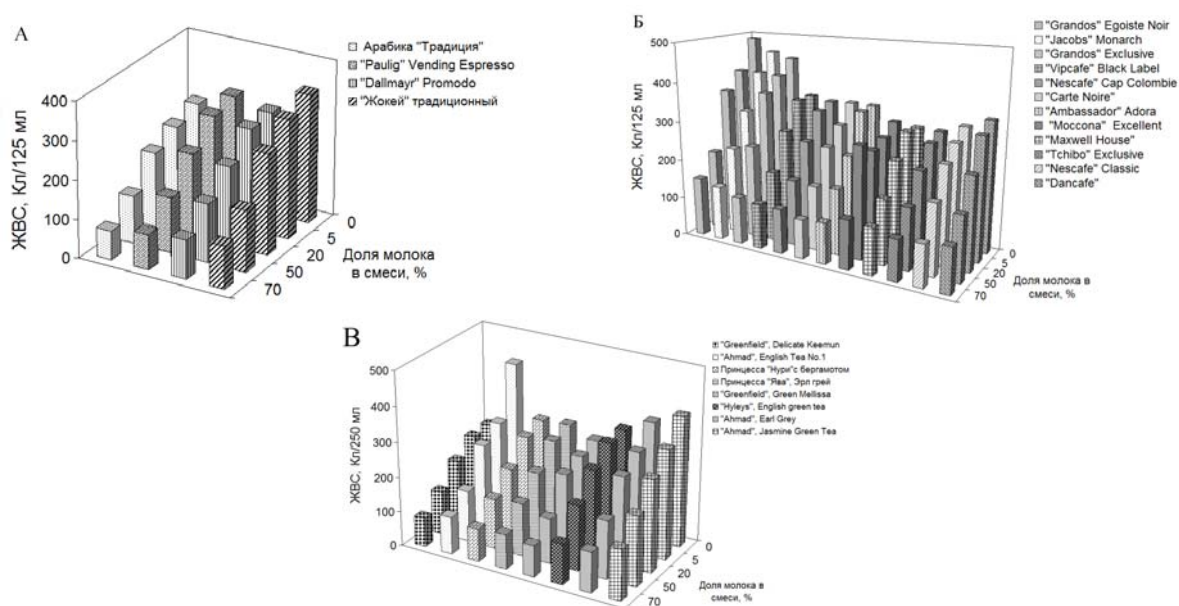


Рис. 6 – ЖВС кофе в зернах (А), растворимого кофе (Б) и чая (В) в присутствии молока.

ЖВС чая и кофе при относительно низком содержании молока в напитках (до 20 %) изменяется незначительно (за исключением "Ahmad" English Tea No. 1). Независимо от торговых марок образцов при дальнейшем увеличении доли молока (до 50%) наблюдается заметное уменьшение ЖВС примерно в два раза, что особенно четко проявляется для кофе в зернах (Рисунок 6А), что подтверждает роль соотношения концентраций фенольного АО и протеинов в связывании компонентов.

Из проведенных исследований можно сделать вывод, что гальваностатическая кулонометрия с электрогенерированными  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами позволяет оценивать антиоксидантные свойства чая и кофе и их изменения в присутствии протеинов молока.

**Вольтамперометрическая оценка антиоксидантной емкости чая и кофе.** Данные об электрохимическом поведении фенольных АО на МУНТ/СУЭ позволили разработать способы оценки АОЕ чая и кофе. Изучены зеленый, белый, полужермантированный (оолонг) и черный чай различных торговых марок. На

соответствующих вольтамперограммах наблюдаются ступени окисления, форма, потенциал и площадь которых зависят от категории чая (Рис. 7).

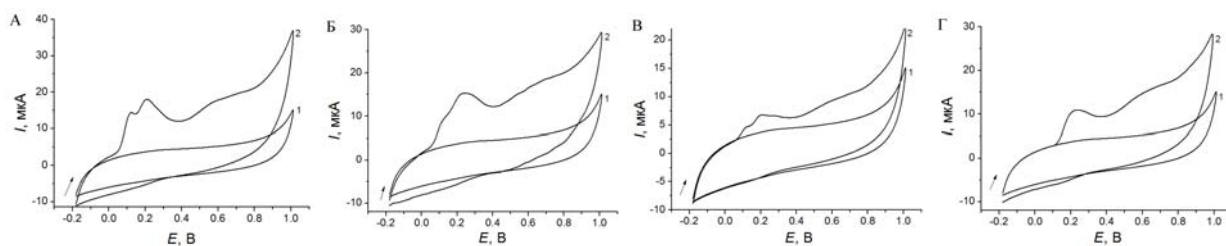


Рис. 7 – Циклические вольтамперограммы чая (кривая 2) на МУНТ-СУЭ: А – зеленый; Б – белый; В – полуферментированный; Г – черный. Фоновый электролит – 0.1 М фосфатный буферный раствор pH 7.4 (кривая 1).  $\nu = 100$  мВ/с.

Компоненты зеленого, белого и полуферментированного чая окисляются по трем ступеням при 0.13-0.17, 0.20-0.25 В и 0.6 В (Рис. 7А-В). Токи окисления белого и зеленого чая сопоставимы, а для полуферментированного чая значительно ниже при сохранении формы вольтамперограмм. Для черного чая наблюдается пик окисления при 0.2-0.26 В и слабо выраженная ступень при 0.6 В (Рис. 7Г). Отсутствие ступени окисления в области 0.15 В обусловлено процессами окисления и конденсации катехинов в процессе ферментации. Исходя из потенциалов, можно сделать вывод, что первая ступень обусловлена окислением катехинов. Потенциалы окисления рутина, кверцетина и дигидрокверцетина подтверждают их вклад в пик окисления чая при 0.20-0.25 В. Ступень окисления при 0.6 В для всех категорий чая соответствует потенциалам второй ступени катехина и галловой кислоты.

Для оценки антиоксидантных свойств чая использовали параметр АОЕ, отражающий общее содержание АО в образце. С учетом формы циклических вольтамперограмм, для определения АОЕ использовали общую площадь первых двух ступеней окисления чая. АОЕ выражали в эквивалентах катехина в пересчете на 250 мл чая.

Оценена АОЕ различных образцов чая (Табл. 11). Зеленый и белый чай показали сопоставимые значения АОЕ ( $725 \pm 100$  и  $638 \pm 28$  мг катехина/250 мл, соответственно,  $p > 0.05$ ), что обусловлено стадиями завяливания и высушивания чайного листа, приводящее к частичному окислению катехинов на 5-10 % под действием кислорода воздуха. АОЕ полуферментированного чая ( $175 \pm 13$  мг катехина/250 мл) на 76 % ниже, чем зеленого и статистически незначимо выше, чем черного чая ( $135 \pm 55$  мг катехина/250 мл). АОЕ черного чая на 81 % ниже, чем зеленого ( $135 \pm 55$  и  $725 \pm 100$  мг катехина/100 мл,  $p < 0.05$ ), что хорошо согласуется со степенью ферментации, составляющей 80-95 %. АОЕ травяных чаев варьируется в широких пределах в зависимости от базовых компонентов. Для однотипных образцов, например, ромашкового чая, получены сопоставимые значения АОЕ.

Таблица 11 – Результаты вольтамперометрической оценки АОЕ чая в эквивалентах катехина ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Категория	Образец	АОЕ, мг катехина/250 мл	$s_T$
Зеленый чай	“Monkey King” Jasmine tea	675±20	0.028
	Краснодарский чай “Уникальный”	758±17	0.019
	“Greenfield” Green melissa	630±17	0.025
	“Беседа” с листьями черной смородины	658±21	0.028
	“Ahmad” Jasmine green tea	900±22	0.021
Белый чай	“Nordqvist” White tea grapeberry	667±3	0.004
	“Lipton” White tea Rose violet	618±3	0.003
	“Lipton” White tea Pomegranate	603±3	0.004
	“Greenfield” Mango delight	660±12	0.014
	“Greenfield” White bloom	638±12	0.016
Полуферментированный чай	“Greenfield” Highland oolong	180±3	0.016
	“Сань Мин Хуа” оолонг с ванилью	190±7	0.027
	“Чайная коллекция” тегуаньинь	180±8	0.039
	“Черный дракон” женьшеневый улун	173±5	0.029
	“Chinese famous tea” Tie Guan Yin oolong tea	155±3	0.015
Черный чай	“Hyleys” English Aristocratic tea	138±10	0.054
	“Ahmad” Ceylon tea F.B.O.P.F.	240±10	0.032
	“Jumbo Brand tea” Ceylon tea	150±10	0.054
	“Lipton” Yellow label	43±5	0.040
	“Золотая чаша” с листьями черной смородины	50±2	0.030
	“Dilmah” Premium Ceylon	105±5	0.046
	“Ahmad” English breakfast	173±5	0.024
	“Greenfield” Spring melody	115±7	0.044
Травяной чай	Каркаде	45±5	0.062
	“Tess” Light	133±5	0.032
	“Tess” Daisy	9.5±0.5	0.037
	“Greenfield” Rich Camomile	11.0±0.7	0.049

Для оценки АОЕ кофе использовали ДИВ. Установлено, что для кофе характерны пики окисления при 0.2 и 0.43 В (Рис. 8), причем второй пик слабо выражен, особенно для растворимого кофе.

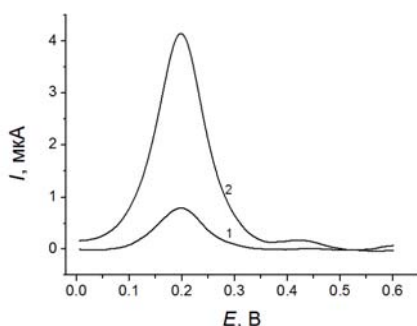


Рис. 8 – Дифференциально-импульсные вольтамперограммы кофе на МУНТ/СУЭ с коррекцией базовой линии: 1 – растворимый кофе; 2 – кофе в зернах. Фоновый электролит – 0.1 М фосфатный буферный раствор pH 7.4. Скорость изменения потенциала 10 мВ/с.

Исходя из потенциалов окисления гидроксикоричных кислот на МУНТ/СУЭ (С. 14, Табл. 2), можно считать, что первый пик обусловлен окислением хлорогеновой и кофейной кислот, что подтверждается методом стандартных добавок, причем вклад кофейной кислоты выше, чем хлорогеновой. Это объясняется присутствием в

структуре последней остатка кофейной кислоты, который и окисляется на электроде. Второй пик соответствует окислению феруловой кислоты.

Для оценки АОЕ кофе (Табл. 12) использовали суммарный ток окисления по двум ступеням, а в качестве стандарта – хлорогеновую кислоту, поскольку она является основной формой существования кофейной кислоты в кофе. Установлено что АОЕ молотого кофе и кофе в зернах несколько выше, чем АОЕ растворимого кофе ( $194 \pm 53$  и  $148 \pm 103$  мг хлорогеновой кислоты/100 мл,  $p > 0.05$ ), но различие статистически недостоверно, что обусловлено сильно отличающимися значениями АОЕ для растворимого кофе в зависимости от производителя и ценовой категории.

Таблица 12 – АОЕ кофе по данным ДИВ на МУНТ/СУЭ ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Категория	Образец	АОЕ, мг хлорогеновой кислоты/100 мл	$s_r$
Кофе молотый	“Starbucks” Guatemala Casl Cielo	$162 \pm 9$	0.047
	“Starbucks” Tribute Blend	$215 \pm 2$	0.007
	“Carte Noire” Arabica Exclusif	$166 \pm 3$	0.019
	“Melitta” Aroma	$199 \pm 6$	0.024
	“Melitta” Excellent	$282 \pm 9$	0.026
	“Grandos” Double Espresso	$148 \pm 20$	0.108
	“Sunny” Brazilian Coffee	$269 \pm 12$	0.036
	“Dallmayr” Prodomo	$176 \pm 4$	0.017
	“Auchan” Tradition café	$128 \pm 7$	0.042
Кофе растворимый	“Grandos” Cafe Gold Super	$45 \pm 5$	0.091
	“Moccona” Premium Selection	$53 \pm 6$	0.084
	“Vipcafe” Espresso	$161 \pm 6$	0.029
	“Carte Noire”	$77 \pm 4$	0.044
	“Jacobs” Monarch	$162 \pm 9$	0.045
	“Nescafe” Classic	$338 \pm 21$	0.050
	“Nescafe” Gold	$201 \pm 10$	0.042

**Комплексная электрохимическая оценка антиоксидантных свойств и качества коньяков и бренди.** Согласно данным Национального Межпрофессионального Бюро Коньяка основными АО коньяка являются эллаговая и галловая кислоты, сиреневый альдегид, ванилин, кониферальдегид, фурфураль и 5-гидроксиметилфурфураль, экстрагирующиеся из древесины дуба в процессе выдерживания спиртов в бочках. Результаты их титрования электрогенерированными бромом и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами показывают, что бром взаимодействует со всеми рассматриваемыми АО, кроме фурфурала, а  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионами – только с эллаговой и галловой кислотами. Поэтому кулонометрическое титрование с электрогенерированными окислителями можно предложить для оценки антиоксидантных свойств коньяков и бренди. Различие в реакционной способности кислот и альдегидов по отношению к электрогенерированным бромом и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионам можно использовать для оценки вкладов классов исследуемых АО в интегральные показатели.

Оценены интегральная АОЕ и ЖВС ряда коньяков и бренди (Табл. 13). Установлено, что интегральная АОЕ практически во всех случаях выше, чем ЖВС. Интегральная АОЕ и ЖВС коньяков и бренди увеличиваются по мере увеличения их возраста, однако отличие статистически незначимо ( $p>0,05$ ), что обусловлено сильно отличающимися данными для отдельных образцов бренди каждой категории, а также для коньяков марки “Hennessy”.

Таблица 13 – Антиоксидантные свойства коньяков и бренди по данным гальваностатической кулонометрии ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Напиток	Категория	Объект	Страна	Интегральная АОЕ, Кл/100 мл	$s_r$	ЖВС, Кл/100 мл	$s_r$
Коньяк	VS	Hennessy	Франция	86±1	0.010	63±2	0.027
		Courvoisier		29±1	0.037	23±1	0.037
		Meukow		32.5±0.8	0.019	34±1	0.031
		Martell		49±2	0.034	44±3	0.048
	VSOP	Hennessy		112±4	0.027	84±3	0.027
		Courvoisier		41±3	0.053	36±3	0.066
		Martell		70±3	0.031	57±3	0.045
		Louis Royer		51±1	0.016	46.4±0.7	0.012
	XO	Hennessy		160±2	0.010	136±1	0.007
		Courvoisier		73±2	0.026	65±1	0.017
		Martell		94±2	0.020	91±2	0.022
Бренди	3 звезды	Аракс	Армения	41±1	0.020	26±1	0.042
		Бренди “Кизлярский”	Россия	15.4±0.5	0.027	16±1	0.058
		Золото Дагестана	Россия	29±1	0.037	36.0±0.9	0.020
		Father’s Old Barrel, VS	Россия	41±1	0.028	36±2	0.047
		Три звездочки	Россия	46±2	0.037	45.7±0.3	0.060
	4 звезды	Армянский коньяк	Армения	33±1	0.030	14.0±0.4	0.025
		Армянское золото	Армения	43±2	0.018	28±2	0.059
	5 звезд	Бабек	Азербайджан	68±3	0.040	29±2	0.064
		Одесский	Украина	30±3	0.085	40±4	0.082
		Российский коньяк “Пять звездочек”	Россия	60±2	0.026	49±2	0.032
		Пять звездочек	Россия	24±3	0.091	20±3	0.10
	KB	Арагат “Ани”	Армения	75±2	0.025	55±2	0.030
		Лезгинка	Россия	30±1	0.015	25±1	0.040
	КС	Арагат “Ахтамар”	Армения	88±2	0.015	58±2	0.026
		Кизляр	Россия	63±2	0.023	55±3	0.035
		Jacques de la Croix Maron	Россия	66.5±0.6	0.008	61.2±0.9	0.012
	ОС	Праздничный	Армения	108±2	0.014	88±3	0.023

Изучено окисление коньяков и бренди на СУЭ и МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора методом ДИВ. Наилучшие характеристики получены при pH 3.0. На СУЭ наблюдаются слабо выраженная ступень при 0.43 В и выраженный пик окисления при 0.57 В (Рис. 9А). Для коньяков категории VS и ординарных бренди проявляется только второй пик при 0.57 В. На МУНТ/СУЭ для

всех категорий коньяков и бренди регистрируются два пика окисления при 0.44 и 0.59 В (Рис. 9Б).

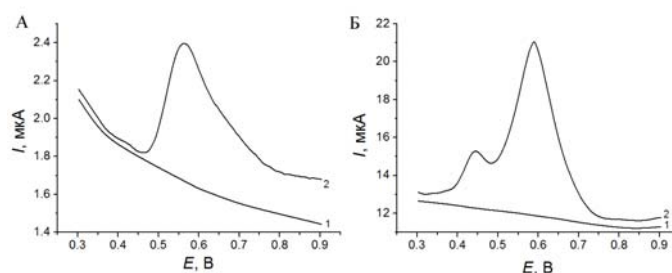


Рис. 9 – Типичные дифференциально-импульсные вольтамперограммы коньяка (кривая 2) в среде фосфатного буферного раствора pH 3.0 (кривая 1): А – СУЭ; Б – МУНТ/СУЭ. Амплитуда импульса 50 мВ, время импульса – 50 мс,  $v = 10$  мВ/с.

Найдены потенциалы окисления индивидуальных АО коньяков и бренди. Установлено, что фурфурал не окисляется в рассматриваемой области потенциалов. Эллаговая кислота дает один пик окисления при 0.59 В. Галловая кислота окисляется по двум ступеням (0.44, 0.75 В). Потенциалы первых ступеней окисления галловой кислоты, сиреневого и кониферальдегидов близки по значениям (0.44, 0.46 и 0.41, соответственно) и могут вносить вклад в первый пик окисления коньяков и бренди. Второй пик окисления коньяков и бренди совпадает с потенциалом окисления эллаговой кислоты. Вклады эллаговой и галловой кислот в токи окисления коньяков и бренди подтверждены методом добавок. Степень открытия составила 96 % для эллаговой и 13.6 % для галловой кислот. Таким образом, пик окисления коньяков при 0.59 В обусловлен окислением эллаговой кислоты. Первый пик окисления при 0.44 В носит интегральный характер, в который вносит вклад галловая кислота.

Предложен вольтамперометрический способ оценки АОЕ коньяков и бренди. В качестве параметра, характеризующего антиоксидантные свойства, выбран суммарный ток окисления образца по двум ступеням. Так как основным АО коньяков и бренди является эллаговая кислота, то АОЕ выражали в ее эквивалентах в пересчете на 100 мл напитка (Табл. 14).

Таблица 14 – АОЕ коньяков и бренди по данным ДИВ ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Образец	Категория	АОЕ, мг эллаговой кислоты/100 мл	$s_r$
Hennessy	VS	$3.6 \pm 0.2$	0.023
Коньяк 5 звезд	5 звезд	$0.62 \pm 0.05$	0.065
Лезгинка	KB	$1.29 \pm 0.06$	0.020
Арапат “Ани”	KB	$5.9 \pm 0.4$	0.068
Кизляр	КС	$3.0 \pm 0.2$	0.022
Арапат “Ахтамар”	КС	$6.7 \pm 0.1$	0.013
Праздничный	ОС	$10.0 \pm 0.2$	0.018

На основе полученных потенциалов окисления коньяков и бренди разработан хроноамперометрический способ оценки их АОЕ. Для этого фиксировали изменение



тока окисления коньяков и бренди во времени при потенциале 0.59 В в течение 100 с (Рис. 10). Установлено, что 75 с – достаточное время электролиза, позволяющее достичь стационарного состояния. Следует отметить, что объем образца для хроноамперометрического определения в 4 раза меньше, чем для ДИВ.

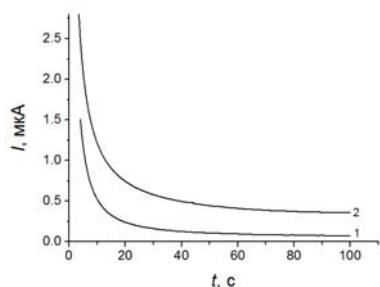


Рис. 10 – Типичная хроноамперограмма 0.5 мл коньяка (кривая 2) на МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора pH 3.0 (кривая 1) при потенциале 0.59 В.

Для количественной оценки АОЕ коньяков и бренди брали разность токов образца и фонового электролита, устанавливающихся через 75 с после начала измерения. АОЕ выражали в эквивалентах эллаговой кислоты в пересчете на 100 мл коньяка или бренди (Табл. 15).

Таблица 15 – Хроноамперометрическая оценка АОЕ коньяков и бренди ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Напиток	Категория	Объект	АОЕ, мг эллаговой кислоты/100 мл	$s_r$
Коньяк	VS	Hennessy VS	10.5±0.8	0.061
		Courvoisier VS	2.97±0.07	0.019
		Meukow VS	3.4±0.3	0.097
		Martell VS	9.6±0.2	0.013
	VSOP	Hennessy VSOP	13.8±0.1	0.066
		Courvoisier VSOP	5.0±0.3	0.055
		Martell VSOP	7.4±0.8	0.088
		Louis Royer VSOP	7.3±0.7	0.073
	XO	Hennessy XO	19.3±0.2	0.061
		Courvoisier XO	8.4±0.6	0.061
		Martell XO	11.6±0.2	0.014
Бренди	3 звезды	Аракс	4.3±0.4	0.077
	4 звезды	Армянский коньяк	12±4	0.031
	5 звезд	Бабек	8.9±0.2	0.020
		Одесский	4.1±0.1	0.026
		Российский коньяк “Пять звездочек”	2.8±0.1	0.029
		Армянское золото	3.51±0.5	0.14
		Пять звездочек	1.6±0.2	0.13
	КВ	Лезгинка. КВ	2.4±0.2	0.083
		Арагат “Ани”	9.8±0.4	0.031
	КС	Арагат “Ахтамар”	7.2±0.6	0.066
		Кизляр	6.2±0.1	0.015
	ОС	Праздничный	13.6±0.6	0.034

Установлены положительные корреляции параметров ( $r = 0.8311-0.9847$  при  $P=0.95$ ), характеризующих антиоксидантные свойства по данным гальваностатической кулонометрии, ДИВ и хроноамперометрии между собой и со стандартными параметрами (АОА и ОФ). Следует отметить, что способы

определения АОА и ОФ имеют ряд недостатков, которые не всегда позволяют надежно оценить рассматриваемые параметры.

В настоящее время на рынке алкогольной продукции все чаще встречаются фальсифицированные напитки. Поэтому оценка качества алкогольной продукции представляет актуальную задачу, имеющую важное социальное значение. Самым грубым и распространенным способом фальсификации коньяков и бренди является замена коньячных спиртов на зерновой или технический спирт. Оценена возможность использования разработанных электрохимических методов определения АОЕ алкогольных напитков для оценки их качества. Исследованы 10 образцов бренди, пять из которых были признаны фальсификатами по данным газовой хроматографии. Для образцов, признанных фальсификатами, наблюдаются изменения хроматографического профиля по основным компонентам (низшим спиртам и эфирам), а также появляются пики нетипичных соединений, в частности, синтетических вкусоароматических добавок 1,2-пропандиола (пик 22) и глицерина (пик 23), присутствие которых считается признаком фальсификации бренди (Рис. 11). Для фальсифицированных образцов характерно высокое содержание 1,2-пропандиола (45-1755 мг/л) и глицерина (40-381 мг/л). Три фальсификата содержат также токсичный 1,2-этандиол (3-18 мг/л), используемый в качестве подсластителя.

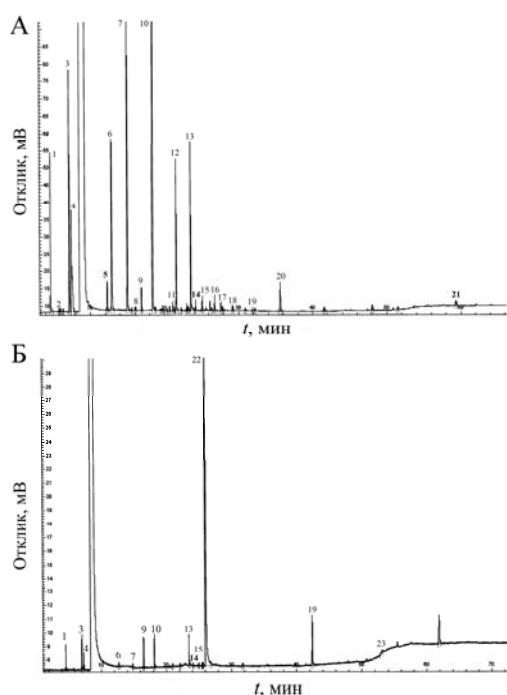


Рис. 11 – Типичные хроматограммы бренди (А) и фальсификатов (Б) на примере образца “Кизляр”, КС. 1 – ацетальдегид, 2 – метилацетат, 3 – этилацетат, 4 – метанол, 5 – бутанол-2, 6 – пропанол, 7 – 2-метилпропанол-1, 8 – 2-пропен-1-ол, 9 – бутанол-1, 10 – 3-метилбутанол-1, 11 – гексанол-1, 12 – этиллактат, 13 – уксусная кислота, 14 – фурфураль, 15 – пропионовая кислота, 16 – этилдеcanoат, 17 – изовалериановая кислота, 18 – валериановая кислота, 19 – этиллаурат, 20 – 2-фенилэтанол, 21 – 5-гидроксиметилфурфураль, 22 – 1,2-пропандиол, 23 – глицерин.

Образцы бренди не содержат синтетические вкусоароматические добавки. На их хроматограммах присутствуют пики фурфурала (пик 14) и 5-гидроксиметилфурфурала (пик 21), образующихся при термообработке дубовых бочек, а также входят в состав карамельного колера, который добавляется в напиток при производстве. Для фальсификатов тоже регистрируется пик фурфурала, но его интенсивность значительно меньше, чем для бренди. Среднее содержание фурфурала

в фальсификатах составляет 0-5.8 мг/л, а для бренди – 9.0-16.0 мг/л. 5-Гидроксиметилфурфураль содержится только в бренди и его концентрация составляет от 33 до 119 мг/л. Исходя из результатов хроматографического анализа, можно сделать вывод, что все исследуемые фальсификаты содержат синтетические вкусоароматические добавки для имитации органолептических свойств бренди.

Проведен сравнительный анализ антиоксидантных параметров бренди и фальсификатов по данным комплекса электрохимических методов: кулонометрического титрования, ДИВ и хроноамперометрии.

Интегральная АОЕ и ЖВС для бренди и фальсификатов статистически достоверно отличаются для бренди и фальсификатов (Табл. 16). Для последних интегральная АОЕ и ЖВС обусловлены добавлением вкусоароматических добавок, например, ванилина, аскорбиновой кислоты и других соединений фенольной природы, которые вступают в реакции с титрантами. Кроме того, фальсификаты могут содержать и другие органические соединения, которые взаимодействуют с титрантами. ЖВС является более селективным параметром. Для всех фальсификатов значения интегральной АОЕ и ЖВС примерно одинаковы ( $10 \pm 3$  и  $6 \pm 2$  Кл/100 мл, соответственно), что подтверждает идентичный способ фальсификации с применением аналогичных синтетических вкусоароматических добавок, что хорошо согласуется с данными хроматографического анализа.

Таблица 16 – Интегральная АОЕ и ЖВС бренди и фальсификатов ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Напиток	Образец, категория	Интегральная АОЕ, Кл/100 мл	$s_r$	ЖВС, Кл/100 мл	$s_r$
Бренди	Пять звездочек	$24 \pm 3$	0.091	$20 \pm 3$	0.10
	Лезгинка, КВ	$30 \pm 1$	0.015	$25 \pm 1$	0.040
	Арагат “Ани”, КВ	$75 \pm 2$	0.025	$55 \pm 2$	0.030
	Кизляр, КС	$63 \pm 2$	0.023	$55 \pm 3$	0.035
	Праздничный, ОС	$108 \pm 2$	0.014	$88 \pm 3$	0.023
Фальсификат	Лезгинка, КВ	$10 \pm 1$	0.085	$5 \pm 2$	0.16
	Кизляр, КС	$10 \pm 2$	0.13	$7 \pm 1$	0.041
	Зухра	$15 \pm 2$	0.11	$5 \pm 1$	0.18
	Старый Кенигсберг, 4 звезды	$8 \pm 1$	0.057	$8 \pm 2$	0.097
	Большой приз, 3 звезды	$8 \pm 2$	0.22	$4.3 \pm 0.9$	0.18

Изучено вольтамперометрическое поведение фальсификатов. Найдено, что вольтамперометрические профили фальсификатов сильно отличаются между собой (Рис. 12Б-Д) и от профиля бренди (Рис.12А). На вольтамперограммах фальсификатов отсутствуют характеристические пики окисления при 0.44 и 0.59 В, но проявляются другие пики окисления. Кроме того, интенсивность наблюдаемых сигналов примерно в 10 раз меньше, чем для бренди. Методом стандартных добавок показано, что одним из компонентом вкусоароматических добавок, улучшающих органолептические свойства фальсификатов, является ванилин. Вольтамперограмма фальсификата “Большой приз, 3 звезды” не отличается от фоновой кривой, что свидетельствует об

отсутствии стадии выдерживания спиртов в дубовых бочках в процессе изготовления напитка, а также об использовании вкусоароматических добавок, которые электрохимически неактивны в исследуемой анодной области. Из полученных данных следует сделать, что качество бренди можно оценить вольтамперометрически по пикам окисления АО, которые экстрагируются из дубовых бочек в процессе выдерживания спиртов.

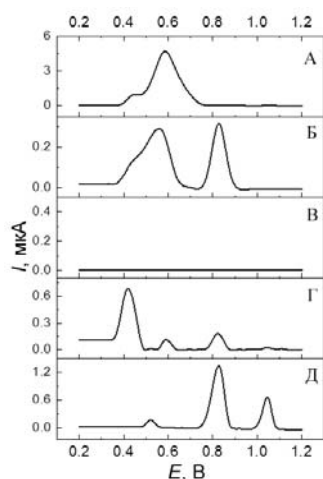


Рис. 12 – Дифференциально-импульсные вольтамперограммы бренди (А) и фальсификатов (Б-Д) на МУНТ/СУЭ с коррекцией базовой линии: А – Кизляр, КС; Б – Кизляр, КС; В – Большой приз, 3 звезды; Г – Зухра; Д – Старый Кенигсберг, 4 звезды. Фоновый электролит – 0.1 М фосфатный буферный раствор pH 3.0.

Установлено, что хроноамперограммы при 0.59 В фальсификатов практически полностью совпадают с кривыми фонового электролита и заметно отличаются от кривых бренди, что позволяет идентифицировать фальсификаты.

Для количественной оценки можно использовать параметр АОЕ. Установлено, АОЕ бренди и фальсификатов по данным ДИВ и хроноамперометрии достоверно отличаются (Табл. 17). Полученные данные указывают на отсутствие стадии выдерживания спиртов в бочках. Для фальсификата “Зухра” возможно добавление экстракта древесины дуба.

Таблица 17 – АОЕ бренди и фальсификатов по данным ДИВ и хроноамперометрии ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Напиток	Образец, категория	Вольтамперометрия		Хроноамперометрия	
		АОЕ, мг эллаговой кислоты/100 мл	$S_T$	АОЕ, мг эллаговой кислоты/100 мл	$S_T$
Бренди	Пять звездочек	$0.86 \pm 0.05$	0.056	$1.6 \pm 0.1$	0.058
	Лезгинка, КВ	$1.29 \pm 0.06$	0.020	$2.4 \pm 0.1$	0.039
	Арагат “Ани”, КВ	$5.9 \pm 0.4$	0.068	$9.8 \pm 0.4$	0.031
	Кизляр, КС	$3.0 \pm 0.2$	0.022	$6.2 \pm 0.1$	0.015
	Праздничный, ОС	$10.0 \pm 0.2$	0.018	$13.6 \pm 0.6$	0.034
Фальсификат	Лезгинка, КВ	$0.012 \pm 0.002$	0.13	0	
	Кизляр, КС	$0.0093 \pm 0.0001$	0.012	0	
	Зухра	$0.106 \pm 0.009$	0.066	$0.09 \pm 0.02$	0.015
	Старый Кенигсберг, 4 звезды	0		0	
	Большой приз, 3 звезды	0		0	

Проведенные исследования показали, что разработанные электрохимические подходы для определения интегральных антиоксидантных показателей можно использовать для оценки качества коньяков и бренди.

**Хронокулонометрическая оценка антиоксидантной емкости вин.** На дифференциально-импульсных вольтамперограммах сухих вин на МУНТ/СУЭ на фоне фосфатного буферного раствора pH 4.0 наблюдаются по три пика окисления при 0.39, 0.61 и 0.83 В для красного и 0.39, 0.80 и 1.18 В для белого вин (Рис. 13).

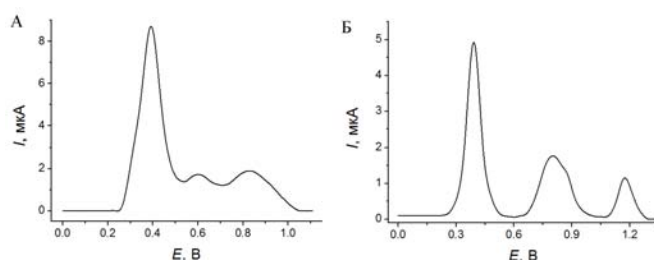


Рис. 13 – Типичные дифференциально-импульсные вольтамперограммы 1 мл вина (кривая 2) на фоне 0.1 М фосфатного буферного раствора pH 4.0 с коррекцией базовой линии: А – красное сухое вино; Б – белое сухое вино.  $v = 10$  мВ/с.

Ступени окисления вин носят интегральный характер, что подтверждается методом стандартных добавок индивидуальных АО. Первый пик при 0.39 В не зависит от типа вина и обусловлен окислением флавоноидов (катехинов, кверцетина, танинов) и гидроксикоричных кислот (кофейной и феруловой) по первой ступени. Второй пик окисления красных вин соответствует, вероятно, окислению антоцианидинов, а также катехинов и альдегидов по второй ступени. Третий пик красных и второй пик белых вин соответствует окислению *n*-кумаровой кислоты и флавоноидов по вторым и третьим ступеням. Третий пик окисления белых вин при 1.18 В соответствует сульфитам.

На основе полученных результатов предложен способ хронокулонометрической оценки антиоксидантной емкости вин. Для этого фиксировали изменение количества электричества во времени при потенциале 0.83 В для красных вин и 1.18 В – для белых (Рис. 14). Установлено, что 100 с – достаточное время электролиза, позволяющее достичь стационарного состояния.

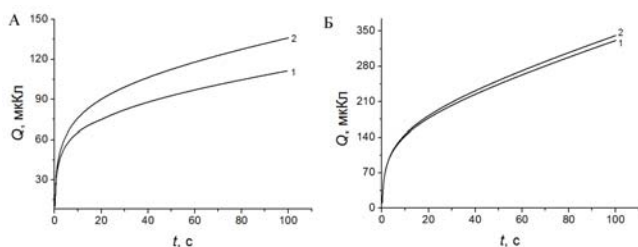


Рис. 14 – Хронокулонометрические кривые красного (А) и белого (Б) вин (кривая 2) на фоне 0.1 М фосфатного буферного раствора pH 4.0 (кривая 1).

В качестве стандарта использовали галловую кислоту, диапазоны определяемых содержаний которой составили 0.52-388.5 мкМ при 0.83 В и 2.0-400 мкМ при 1.18 В с ПрО 0.25 и 1.0 мкМ, соответственно. Для количественной оценки АОЕ вин использовали разность между количеством электричества для образца и фонового электролита, устанавливающихся через 100 с после начала измерения. АОЕ выражали в эквивалентах галловой кислоты в пересчете на 1 л вина (Табл. 18). Установлено, что

АОЕ красных и белых вин достоверно отличаются ( $1224 \pm 184$  и  $386 \pm 112$  мг галловой кислоты/л, соответственно,  $p < 0.0001$ ). Хронокулонометрический способ позволяет значительно уменьшить объем образца (до 50 мкл по сравнению с 1 мл в ДИВ), необходимый для проведения анализа.

Таблица 18 – АОЕ вин по данным хронокулонометрии ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Вид вина	Образец (год урожая)	АОЕ, мг галловой кислоты/л	$s_r$
Красное вино	Barton&Guestier Réserve Merlot (2010)	$1311 \pm 34$	0.021
	Le clos du Manoir Montagne Saint-Emilion (2009)	$1508 \pm 22$	0.012
	Tour de Mandelotte Bordeaux(2010)	$1073 \pm 53$	0.040
	Chateau Garriga Saint Martin (2008)	$1124 \pm 76$	0.054
	Chianti Riserva “Tancia”(2007)	$1104 \pm 32$	0.023
Белое вино	Candidato Viura (2010)	$318 \pm 27$	0.069
	Biserni Rhine Riesling (2008)	$422 \pm 27$	0.051
	Le clos du Manoir Bordeaux sec Blanc (2010)	$277 \pm 6$	0.018
	Marquis d’Orleton Chardonnay (2011)	$527 \pm 6$	0.010

Результаты хронокулонометрической оценки АОЕ вин коррелируют с их интегральной АОЕ ( $r = 0.8957$  и  $0.8986$  для красного и белого сухого вина, соответственно при  $r_{\text{крит}} = 0.811$  и  $0.878$  и  $P=0.95$ ).

### *Электроанализ антиоксидантов в присутствии ПАВ*

Многие биологически активные соединения, в том числе и некоторые антиоксиданты, малорастворимы в воде. Поэтому их определение, как правило, проводят в органических средах, являющихся токсичными и летучими. Исходя из принципов концепции «зеленой химии», актуальной является замена органических растворителей на менее токсичные или совсем нетоксичные среды, что имеет значение и в органическом анализе. Для решения этой задачи можно использовать системы на основе ПАВ, которые изменяют растворимость органических соединений в водной среде, а также могут влиять на скорость и направление электродных реакций, что позволяет управлять аналитическим сигналом, а, следовательно, повышать чувствительность и селективность отклика на тот или иной аналит.

**Гальваностатическая кулонометрия антиоксидантов в ПАВ-содержащих средах.** Оценена эффективность кулонометрической генерации галогенов и  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов в присутствии ПАВ в диапазоне от 1 мкМ до 10 мМ. Установлены максимально допустимые концентрации ПАВ, обеспечивающие 100 % выход титрантов по току (Табл. 19).

На примере аскорбиновой кислоты, рутина и  $\alpha$ -токоферола показано, что ПАВ-содержащие среды могут использоваться для кулонометрического определения АО. При этом анионные ПАВ дают завышенные результаты при титровании галогенами, а катионные ПАВ – в случае  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ -ионов, что связано с pH среды, в которой генерируются титранты, а также формой аналита в этих условиях.

Таблица 19 – Максимальная концентрация ПАВ, обеспечивающая 100 % эффективность электрохимической генерации титрантов

ПАВ	C <sub>ПАВ(max)</sub> , М			
	Cl <sub>2</sub>	Br <sub>2</sub>	I <sub>2</sub>	[Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sup>3-</sup>
ДДПБ	1.0×10 <sup>-3</sup>	1.0×10 <sup>-4</sup>	1.0×10 <sup>-5</sup>	1.0×10 <sup>-3</sup>
ЦПБ	1.0×10 <sup>-3</sup>	1.0×10 <sup>-5</sup>	2.0×10 <sup>-6</sup>	1.0×10 <sup>-3</sup>
Triton X100	0	1.0×10 <sup>-5</sup>	2.2×10 <sup>-4</sup>	1.0×10 <sup>-3</sup>
Brij® 35	0	1.0×10 <sup>-5</sup>	2.0×10 <sup>-4</sup>	1.0×10 <sup>-3</sup>
ПЭГ 4000	1.0×10 <sup>-4</sup>	1.0×10 <sup>-5</sup>	4.0×10 <sup>-4</sup>	1.0×10 <sup>-3</sup>
ДДС	5.0×10 <sup>-3</sup>	2.0×10 <sup>-4</sup>	6.0×10 <sup>-4</sup>	1.0×10 <sup>-3</sup>

Полученные результаты использованы для определения содержания АО в лекарственных формах для оценки их качества (Табл. 20).

Таблица 20 – Результаты определения АО в лекарственных формах ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Образец	Аналит	Содержание, %, мг*	Гальваностатическая кулонометрия				Вольтамперометрия		$F_{кр.}^6$	$t_{кр.}^6$
			Титрант	ПАВ	Найдено, %, мг*	$s_r$	Найдено, %, мг*	$s_r$		
$\alpha$ -Токоферол ацетат	$\alpha$ -Токоферол	30 <sup>a</sup>	Br <sub>2</sub>	0.1 мМ	28±1	0.028	29.5±0.5 <sup>a</sup>	0.014	1.96	1.34
		10 <sup>a</sup>	Br <sub>2</sub>	ДДПБ	10.6±0.2	0.014	9.8±0.3 <sup>a</sup>	0.026	1.22	2.22
Рутин	Рутин	20*	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup>	0.22 мМ	20±1*	0.039	20.3±0.4*	0.016	5.64	1.64
Аскорутин	Рутин	50*	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup>		50±1*	0.020	50±1*	0.021	1.37	1.12
	Аскорбиновая кислота	50*	I <sub>2</sub>	Triton X100	50±2*	0.033				

<sup>a</sup> – Содержание  $\alpha$ -токоферола в пересчете на  $\alpha$ -токоферол ацетат

<sup>6</sup> $F_{крит}$ =6.39 при  $P=0.95$  и  $df_1=4$ ,  $df_2=4$

<sup>6</sup> $t_{крит}$ =2.31 при  $P=0.95$  и  $df=8$

**Вольтамперометрия антиоксидантов в присутствии ПАВ** была использована для определения различных АО и редокс-медиатора менадиона на стационарном СУЭ. Оценено влияние природы и концентрации ПАВ на вольтамперные характеристики жирорастворимых АО и менадиона. Установлено, что использование ПАВ-содержащих сред улучшает форму вольтамперограмм и повышает степень обратимости электродных реакций. Найдены параметры электроокисления АО и предложены схемы окисления рассматриваемых соединений. На примере менадиона установлено, что мицеллярная среда ДДС стабилизирует анион-радикал семихинона, который обычно подвергается быстрому протонированию. Показано, что применение ПАВ-содержащих сред позволяет улучшить аналитические характеристики определения аналитов, а также в ряде случаев перейти к водным средам или средам с меньшим содержанием органических растворителей (Табл. 21).

Разработанные способы вольтамперометрического определения АО и менадиона в присутствии ПАВ апробированы на реальных объектах (продуктах питания, лекарственных и косметических средствах). Найдены условия количественного извлечения аналитов с помощью подходящих экстрагентов. Показано отсутствие

мешающего влияния компонентов матрицы на вольтамперометрическое определение АО и менадиона. Результаты определения  $\alpha$ -токоферола и ретинола в лекарственных формах с применением организованных сред представлены в табл. 22.

Таблица 21 – Аналитические характеристики вольтамперометрического определения жирорастворимых АО и менадиона в ПАВ-содержащих средах

Аналит	Фоновый электролит	ПАВ	$C_{\text{ПАВ}}$ , мМ	ПрО, мкМ	Диапазон концентраций, мкМ
$\alpha$ -Токоферол	0.1 М LiClO <sub>4</sub> в среде ацетонитрил/вода(6:4)	-	-	17.0	34.0-70.9
		ДПБ	1.0	1.02	2-140
		Triton X100	1.0	1.02	2-100
		ЦПБ	0.5	2.04	4.1-10
Ретинол	0.1 М LiClO <sub>4</sub> среде вода/этанол (93:7)	-	-	30	49-392
		ДДС	0.11	15	29.4-980
$\beta$ -Каротин	0.1 М LiClO <sub>4</sub> в среде этанол/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (9:1)	Triton X100	10	2.5	10-380
Эвгенол	0.1 М LiClO <sub>4</sub> в 10 % этаноле	Triton X100	100	10	20-10000
	0.1 М LiClO <sub>4</sub>	Triton X100	100	3.8	15-1230
		Brij® 35	100	5.0	20-1380
Менадион	0.1 М Н <sub>3</sub> РO <sub>4</sub> в 10 % этаноле	ДДС	9.0	1.66	7.0-560 600-2550
<i>трет</i> -Бутилгидрохинон	Буферный раствор Бриттона-Робинсона pH 3.0 – ацетонитрил (9:1)	ДДС	10	0.23	2.02-1010
<i>трет</i> -Бутилгидроксианизол				0.18	2.34-1170
<i>трет</i> -Бутилгидрокситолуол				3.5	6.15-615

Таблица 22 – Результаты вольтамперометрического определения  $\alpha$ -токоферола и ретинола в лекарственных формах и косметических средствах с применением организованных сред ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Объект анализа	Производитель	Аналит	ПАВ	ω, %	Найдено, %	s <sub>r</sub>
Раствор α-токоферола ацетата в масле	ОАО “Марбиофарм”	α-Токоферол	1 мм ДДПБ	30	29±1	0.031
			1 mM Triton X100		28±2	0.060
Раствор α-токоферола ацетата в масле	ОАО “Уралбиофарм”		1 мм ДДПБ	10	10.4±0.2	0.016
			1 mM Triton X100		10±1	0.070
Aqualia antiox	Vichy Laboratoires		1 mM Triton X100	-	4.22±0.02	0.004
Effaclar-M	La Roche-Posay		1 mM Triton X100	-	0.326±0.002	0.005
Раствор ретинола пальмитата в масле	ОАО “Марбиофарм”	Ретинол	0.11 mM ДДС	3.44	3.1±0.2	0.043
Раствор ретинола пальмитата в масле (годен до 2009 г.)	ОАО “Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга”			3.44	1.5±0.2	0.105
Раствор ретинола пальмитата в масле	ЗАО “Ретиноиды”			5.50	5.43±0.08	0.011
Раствор ретинола пальмитата в масле (годен до 2008 г.)	ЗАО “Ретиноиды”			5.50	3.06±0.02	0.005
Hyséac “Active Care with АНА”	Uriage Eau Thermale			-	0.159±0.002	0.001



В табл. 23 представлены результаты вольтамперометрического определения АО в продуктах питания и менадиона в препарате “Аекол”. Полученные результаты хорошо согласуются с данными независимых спектрофотометрических определений. Методы за редким исключением являются равноточными ( $F\text{-кр.} < F_{\text{крит}}$ ), а величины  $t$ -критериев свидетельствуют об отсутствии систематических погрешностей определения.

Таблица 23 – Результаты определения эвгенола,  $\beta$ -каротина, эвгенола в продуктах питания и менадиона в “Аеколе” в ПАВ-содержащих средах ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Объект анализа	Аналит	Найдено, мг/г, *мг/100г, ** г				$F\text{-кр.}^a$	$t\text{-кр.}^b$
		Вольтамперометрия	$s_r$	Спектрофотометрия	$s_r$		
Гвоздичное эфирное масло	Эвгенол	757±12	0.012	766±7	0.007	2.94	1.87
		731±12	0.013	743±16	0.017	1.78	1.64
Эфирное масло базилика обыкновенного		1.8±0.2	0.082	2.1±0.2	0.070	1.10	2.29
Гвоздика		48±1	0.021	49±2	0.027	2.16	1.64
Корица		12.3±0.7	0.048	12.7±0.5	0.032	1.93	1.58
Мускатный орех		0.71±0.03	0.042	0.75±0.05	0.067	3.88	1.12
Лавровый лист		0.40±0.02	0.050	0.38±0.03	0.079	1.03	0.832
Базилик		1.23±0.07	0.049	1.2±0.1	0.083	11.4	1.25
Морковь	$\beta$ -каротин	9.9±0.3*	0.025	9.8±0.4*	0.032	1.78	0.441
Тыква		2.94±0.05*	0.018	2.90±0.07*	0.025	1.96	1.04
Рябина		7.82±0.08*	0.010	7.9±0.1*	0.013	1.56	1.16
Плоды шиповника		2.90±0.08*	0.028	2.8±0.1*	0.036	1.43	1.95
Петрушка		5.5±0.2*	0.022	5.4±0.2*	0.031	1.01	0.912
Аекол	Менадион	0.050±0.002**	0.029	0.048±0.004**	0.036	1.52	1.59
		0.049±0.003**	0.049	0.050±0.004**	0.034	2.04	0.791

<sup>a</sup>  $t_{\text{крит}}=2.31$  при  $P=0.95$  и  $df=8$

<sup>b</sup>  $F_{\text{крит}}=6.39$  при  $P=0.95$  и  $df_1=4$ ,  $df_2=4$

Показана возможность экстракционно-вольтамперометрического определения ретинола и *трет*-бутилгидрокситолуола в продуктах питания (табл. 24).

Таблица 24 – Результаты вольтамперометрического определения ретинола и *трет*-бутилгидрокситолуола в продуктах питания ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Аналит	Метод, фоновый электролит	Объект анализа	Найдено, мг/100 г; * мг/л	$s_r$
Ретинол	ЦВА 0.11 мМ ДДС на фоне 0.1 М LiClO <sub>4</sub> в среде вода-этанол (93:7)	Морковь сырая	-	-
		Морковь вареная	45.79±0.03	0.026
		Говяжья печень	61.16±0.02	0.016
		Льняное масло	14.18±0.02	0.015
			21.29±0.02	0.016
		Сливочное масло	< ПрО	-
<i>трет</i> -Бутил-гидрокситолуол	ДИВ 10 мМ ДДС в среде ацетонитрил-буферный раствор Бриттона-Робинсона pH 3.0 (1:9)	Масло льняное 100 %	135±1	0.007
		Масло льняное с селеном	177.3±0.9	0.004
		Масло льняное с витамином Е	77±1	0.010
		Льняное масло нерафинированное пищевое	44.5±0.7	0.013
		Облепиховое масло	124±2	0.015

### ПАВ-модифицированные электроды для определения антиоксидантов.

Модифицирование поверхности электродов самоорганизующимися системами используют для концентрирования молекул аналитов и повышения аналитических характеристик их определения. Важную роль при этом играет природа как определяемого соединения, так и ПАВ. Концентрирование происходит либо за счет электростатического взаимодействия ионогенных групп ПАВ и соответствующих функциональных групп аналита, либо при гидрофобном взаимодействии углеводородных фрагментов в структуре ПАВ с гидрофобными молекулами аналита. Представляет интерес сочетание углеродных наноматериалов и ПАВ в качестве модифицирующего покрытия поверхности электрода. Созданы ПАВ-модифицированные электроды для определения природных и синтетических фенольных АО (морина, ванилина, сиреневого альдегида, *трет*-бутилгидрохинона и *трет*-бутилгидроксанизола). Оценено влияние природы и концентрации ПАВ на вольтамперные характеристики окисления АО. Наилучшие параметры природных фенольных АО наблюдаются на электродах, модифицированных катионным ЦПБ, что обусловлено структурным подобием аналитов и ароматическими фрагментами молекул ПАВ. Кроме того, для морина на ЦПБ/ОУНТ-СООН/СУЭ реализуется электростатическое взаимодействие.

Поверхность электродов охарактеризована методом СЭМ (Рис.15). Стеклоуглерод обладает неструктурированной относительно гладкой поверхностью. УНВ равномерно распределены по поверхности и переплетены между собой. Слой ЦПБ не меняет вид поверхности электрода.

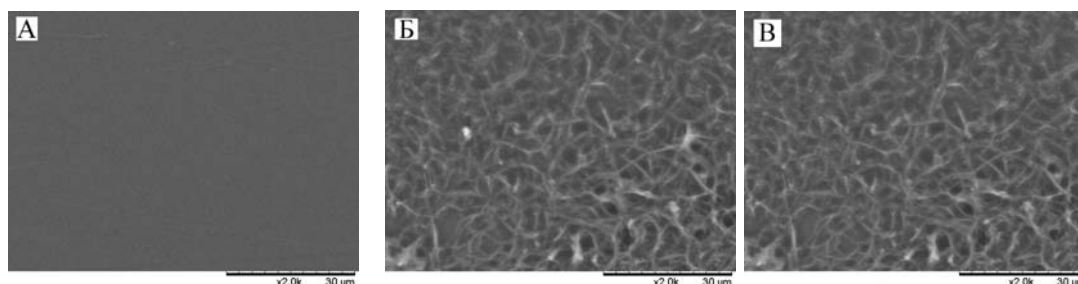
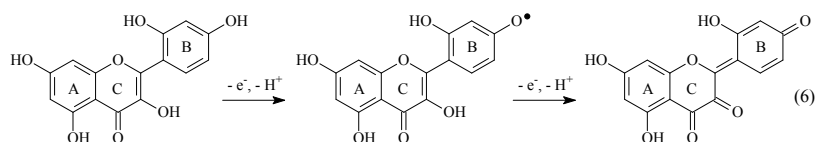


Рис. 15 – СЭМ-изображения морфологии поверхности электродов: А – СУЭ; Б – УНВ/СУЭ; В – ЦПБ/УНВ/СУЭ.  $c_{\text{УНВ}}=0.5$  мг/мл,  $c_{\text{ЦПБ}}=0.5$  мМ.

На ПАВ/УНТ/СУЭ наблюдается увеличение токов окисления аналитов в 1.3-1.8 раза по сравнению с УНТ/СУЭ. Установлены параметры электроокисления и предложены схемы реакций. Окисление морина на ЦПБ/ОУНТ-СООН/СУЭ – необратимый двухступенчатый процесс, протекающий с участием одного электрона и одного протона на каждой ступени согласно схеме 6. Ванилин и сиреневый альдегид окисляются по двухэлектронному механизму до *о*-хинонов.



Для определения ПЗФ предложено сочетание ПАВ-модифицированных электродов и мицеллярных сред, обеспечивающих солюбилизацию аналитов. В качестве потенциальных модификаторов поверхности СУЭ изучены суспензии МУНТ в мицеллярных средах ДДС, ЦПБ, Triton X100 и Brij® 35. Наилучшую гомогенность и стабильность показала суспензия в мицеллярной среде Brij® 35. Рассмотрено вольтамперометрическое поведение ПЗФ на СУЭ и МУНТ-Brij® 35/СУЭ в 1 мМ Brij® 35 на фоне 0.1 М LiClO<sub>4</sub> в воде. Показано, что на МУНТ-Brij® 35/СУЭ происходит уменьшение перенапряжения на 130 для *трет*-бутилгидрохинона и 40 мВ для *трет*-бутилгидроксианизола и увеличение токов их окисления. Установлено, что окисление протекает с участием двух электронов и протонов с образованием *n*-хинонов.

Для количественного определения АО использовали ДИВ. Полученные аналитические характеристики (табл. 25) превосходят описанные ранее с применением других модифицированных электродов.

Таблица 25 – Аналитические характеристики вольтамперометрического определения АО на ПАВ-модифицированных электродах

Аналит	Электрод	ПрО, мкМ	Диапазон концентраций, мкМ	$I=a+bc$		$R^2$
				$a \pm \Delta a$ , мкА	$(b \pm \Delta b) \times 10^{-2}$ , мкА/М	
Морин	ЦПБ/ОУНТ- СООН/СУЭ	0.029	0.10-100 100-750	$-0.011 \pm 0.008$ $0.9 \pm 0.2$	$208 \pm 2$ $104 \pm 4$	0.9996 0.9954
Ванилин	ЦПБ/УНВ/СУЭ	0.14	0.50-75 75-750	$-0.006 \pm 0.002$ $0.8 \pm 0.1$	$158.3 \pm 0.5$ $56 \pm 3$	0.9999 0.9912
Сиреневый альдегид		0.19	0.75-10 10-1000	$(-8.4 \pm 0.4) \times 10^{-3}$ $0.03 \pm 0.04$	$126.8 \pm 0.7$ $161 \pm 1$	0.9910 0.9958
<i>трет</i> -Бутил- гидрохинон	МУНТ-Brij® 35/СУЭ	0.26	1.0-1000	$-0.13 \pm 0.04$	$76.9 \pm 0.9$	0.9985
<i>трет</i> -Бутил- гидроксианизол	МУНТ-Brij® 35/СУЭ	0.15	0.50-7.50 10.0-750	$-0.006 \pm 0.001$ $0.17 \pm 0.03$	$149 \pm 3$ $110.8 \pm 0.9$	0.9980 0.9996

Разность потенциалов окисления *трет*-бутилгидрохинона и *трет*-бутилгидроксианизола на МУНТ-Brij® 35/СУЭ (200 мВ), ванилина и сиреневого альдегида на ЦПБ/УНВ/СУЭ (110 мВ), а также форма аналитических сигналов позволяет проводить их определение при совместном присутствии в широком диапазоне концентраций (2.5-30 мкМ для сиреневого альдегида, 5.0-40 мкМ для ванилина и 2.50-750 мкМ для *трет*-бутилгидрохинона и *трет*-бутилгидроксианизола). Подход для *трет*-бутилгидрохинона и *трет*-бутилгидроксианизола апробирован на экстрактах льняных масел. Показана

возможность их хроноамперометрического определения в экстрактах растительных масел.

Созданные амперометрические сенсоры на основе соиммобилизованных углеродных наноматериалов и ПАВ характеризуются высокой селективностью и использованы для определения морина и ванилина в продуктах питания (табл. 26).

Таблица 26 – Результаты определения морина и ванилина в продуктах питания ( $n=5$ ;  $P=0.95$ )

Аналит	Объект анализа	Найдено вольтамперометрически, мг/г	$s_r$	Найдено стандартным методом, мг/г	$s_r$	$t$ -кр. <sup>a</sup>	$F$ -кр. <sup>b</sup>
Морин	Листья шелковицы	1.59±0.02	0.096	1.61±0.05	0.012	1.94	1.71
		1.71±0.04	0.017	1.75±0.06	0.014	1.80	1.34
Ванилин	Ванильный сахар "Dr. Oetker"	2.86±0.06	0.016	2.9±0.3	0.042	0.422	0.71
	Сахар с натуральной ванилью "Dr. Oetker"	0.16±0.01	0.064	0.17±0.02	0.044	2.14	1.56
	Ванилин "Haas"	48±2	0.038	46±3	0.024	1.46	2.75
	Стручки ванили	4.4±0.2	0.030	4.3±0.1	0.0093	0.867	4.69
	Сухие сливки	1.99±0.04	0.015	2.1±0.1	0.043	1.54	4.00

<sup>a</sup>  $t_{\text{крит}}=2.45$  при  $P=0.95$  и  $df=6$

<sup>b</sup>  $F_{\text{крит}}=6.94$  at  $P=0.095$  и  $df_1=4$ ,  $df_2=2$

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования широкого круга АО, отличающихся по структуре и происхождению, с применением методов электроанализа позволили оценить индивидуальные и групповые характеристики этого класса соединений как объектов биоаналитической химии. На основе полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Предложены способы вольтамперометрического определения природных и синтетических фенольных (ди- и тригидроксibenзолов, флавоноидов, галловой и гидроксикоричных кислот) и серосодержащих (цистеина, глутатиона, метионина, унитиола и  $\alpha$ -липоевой кислоты) АО, а также  $\alpha$ -токоферола и ретинола в лекарственных формах на электродах, модифицированных углеродными нанотрубками. Величина относительного стандартного отклонения не превышает 6 %. Полученные данные хорошо согласуются с результатами независимых методов.
2. Показано, что природа наноматериала, способ его получения и обработки оказывает влияние на свойства электродов. УНТ выполняют функцию медиатора электронного переноса, снижая потенциал перенапряжения аналитов и увеличивая их токи окисления. Метионин, глутатион и унитиол электрохимически активны в доступной области потенциалов только на модифицированном электроде. Применение электродов с углеродными

нанотрубками приводит к улучшению аналитических характеристик определения АО, в частности, понижению ПрО в 2-5 раз (в отдельных случаях до 20 раз) и расширению диапазонов определяемых содержаний на 1-2 порядка.

3. Разработаны способы вольтамперометрического определения липофильных АО ( $\alpha$ -токоферола, ретинола,  $\beta$ -каротина, эвгенола, ПЗФ) и менадиона в продуктах питания, лекарственных формах и косметических средствах в присутствии ПАВ. Оценено влияние природы и концентрации ПАВ на вольтамперные характеристики аналитов. Установлено, что использование ПАВ-содержащих сред улучшает форму вольтамперограмм, повышает степень обратимости электродных реакций, а, следовательно, улучшает аналитические и метрологические характеристики определения аналитов. Показано, что для липофильных АО ПАВ-содержащие среды являются хорошей альтернативой органическим растворителям.
4. Созданы амперометрические сенсоры на основе соимобилизованных углеродных наноматериалов и ПАВ для определения природных (морина, ванилина и сиреневого альдегида) и синтетических (*трет*-бутилгидрохинона и *трет*-бутилгидроксианизола) АО, в том числе близких по структуре упомянутых альдегидов и ПЗФ при совместном присутствии. Аналитические характеристики сенсоров существенно превосходят существующие электрохимические аналоги. ПрО достигают величин нМ, а диапазоны определяемых содержаний составляют 3-4 порядка.
5. Установлены стехиометрические коэффициенты реакций природных и синтетических фенольных АО с электрогенерированными титрантами: галогенами и гексацианоферрат(III)-ионами. Обоснован выбор применения в качестве титранта гексацианоферрат(III)-ионов для определения АО фенольной природы. Показана возможность электрогенерации титрантов в ПАВ-содержащих средах. Предложены способы кулонометрического определения  $\alpha$ -токоферола, флавоноидов и аскорбиновой кислоты в лекарственных формах с величиной относительного стандартного отклонения в диапазоне 1.3-6.8 %.
6. Показано, что гальваностатическая кулонометрия с электрогенерированными бромом и гексацианоферрат(III)-ионами дает возможность оценить взаимодействие флавоноидов с молочными протеинами. Казеин, бычий сывороточный альбумин и  $\beta$ -лактоглобулин связывают рутин, кверцетин и таксифолин за счет межмолекулярных взаимодействий, переводя их в неактивную химическую форму.
7. Разработаны способы оценки интегральных антиоксидантных параметров (ЖВС и АОЕ) специй, чая и кофе с применением вольтамперометрии и кулонометрического титрования. По данным вольтамперометрии установлены

АО, вносящие вклад в АОЕ, которую выражали в эквивалентах галловой кислоты, катехина и хлорогеновой кислоты для специй, чая и кофе, соответственно. Установлено, что значения АОЕ для различных видов чая и кофе статистически достоверно отличаются, что позволяет оценить качество напитков. Методом гальваностатической кулонометрии показано, что ЖВС чая и кофе статистически значимо уменьшается в присутствии молока. Установлены положительные корреляции АОЕ специй с АОА и ОФ ( $r = 0.8892-0.9479$  при  $r_{\text{крит}} = 0.472$ ).

8. Показана возможность применения гальваностатической кулонометрии, ДИВ и хроноамперометрии для оценки антиоксидантных свойств и качества коньяков и бренди. Выявлен ряд АО, вносящих вклад в АОЕ напитков. Установлены корреляции полученных результатов по АОЕ с применением разработанных и стандартных спектрофотометрических методик ( $r = 0.8311-0.9847$  при  $r_{\text{крит}} = 0.444$ ). Предложенные подходы позволяют оценить качество напитков. В зависимости от возраста АОЕ бренди в 8-15 раз выше, чем для фальсификатов. АОЕ фальсификатов по данным ДИВ и хроноамперометрии в большинстве случаев близка или равна нулю, что подтверждает факт отсутствия контакта спиртов с древесиной дуба, то есть факт фальсификации продукции.
9. Разработан способ хронокулонометрической оценки АОЕ вин, характеризующийся простотой и позволяющий уменьшить в 40 раз объем образца, необходимый для проведения анализа. Установлено, что АОЕ красных и белых сухих вин статистически достоверно отличаются ( $1224 \pm 184$  и  $386 \pm 112$  мг галловой кислоты/л, соответственно,  $p < 0.0001$ ).

В диссертации обсуждены проблемы биоаналитической химии АО, решаемые с применением методов электроанализа. Колоссальный резерв из нескольких тысяч индивидуальных АО, с одной стороны, и объектов, в которых они находятся, с другой стороны, представляет обширное поле для исследований в будущем. Если исходить из перманентного мирового интереса к проблемам АО в рамках биомедицины, трендов развития методов и подходов в рамках собственно аналитической химии, то проблема анализа АО остается востребованной и перспективной в социальном аспекте. Естественнаучная картина мира АО является слишком пестрой, что связано с большим разнообразием биомишеней, защиту которых осуществляют АО. Можно ожидать, что усилия исследователей и разработчиков, обращенные на объекты биомедицины, будут направлены, в частности, на создание новых лекарственных препаратов с антиоксидантным действием.

Можно выделить следующие задачи в дальнейшем развитии электроанализа АО:

- исследование и разработка новых химически модифицированных электродов с высокими аналитическими и операционными характеристиками, позволяющих

проводить определение нескольких структурно родственных аналитов, в том числе изомеров и энантиомеров;

- разработка батарей амперометрических сенсоров для оценки антиоксидантного “портрета” объекта на принципах хемотретики. В этом направлении можно ожидать инновационных решений;
- миниатюризация систем путем создания портативных устройств для быстрого скрининга антиоксидантных параметров объекта, основанных на использовании печатных электродов;
- применение новых типов электрохимических детекторов для проточных методов в условиях хроматографии и капиллярного электрофореза.

**Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:**

1. Зиятдинова Г.К. Возможности электроаналитической химии в решении проблем фармацевтического анализа / Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // Фармацевтический анализ (Серия «Проблемы аналитической химии». Т. 16). – М.: АРГАМАК-МЕДИА, 2013. – С. 230-268.
2. Зиятдинова, Г.К. Электрохимическое определение унитиола и липоевой кислоты на электродах, модифицированных углеродными нанотрубками / Г.К. Зиятдинова, Л.В. Григорьева, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64. – № 2. – С. 200-203.
3. Ziyatdinova, G. Electrochemical oxidation of sulfur-containing amino acids on an electrode modified with multi-walled carbon nanotubes / G. Ziyatdinova, L. Grigor'eva, M. Morozov, A. Gilmutdinov, H. Budnikov // Microchim. Acta. – 2009. – V. 165. – № 3-4. – P. 353-359.
4. Зиятдинова, Г.К. Реакции синтетических фенольных антиоксидантов с электрогенерированными титрантами и их аналитическое применение / Г.К. Зиятдинова, А.А. Гайнетдинова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 9. – С. 950-955.
5. Зиятдинова, Г.К. Гальваностатическая кулонометрия в анализе природных полифенолов и ее применение в фармации / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 11. – С. 1202-1206.
6. Ziyatdinova, G. Cyclic voltammetry of retinol in surfactant media and its application for the analysis of real samples / G. Ziyatdinova, E. Giniyatova, H. Budnikov // Electroanalysis. – 2010. – V. 22. – № 22. – P. 2708-2713.
7. Низамова, А.М. Электрогенерированный бром – кулонометрический реагент для оценки биодоступности полифенолов / А.М. Низамова, Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т. 66. – № 3. – С. 308-316.
8. Зиятдинова, Г.К. Кулонометрическая оценка железовосстанавливающей способности некоторых продуктов питания / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, Г.К. Будников // Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 24. – № 4. – С. 72-79.

9. Зиятдинова, Г.К. Использование неионогенных поверхностно-активных веществ в вольтамперометрии эвгенола в водно-органической среде / Г.К. Зиятдинова, Э.Р. Гиниятова, Г.К. Будников // Бутлеровские сообщения. – 2011. – Т. 24. – № 4. – С. 66-71.
10. Ziyatdinova, G. Novel coulometric approach to evaluation of total free polyphenols in tea and coffee beverages in presence of milk proteins / G. Ziyatdinova, A. Nizamova, H. Budnikov // Food Analytical Methods. – 2011. – V. 4. – № 3. – P. 334-340.
11. Ziyatdinova, G. Cyclic voltammetry of natural flavonoids on MWNT-modified electrode and their determination in pharmaceuticals / G. Ziyatdinova, I. Aytuganova, A. Nizamova, M. Morozov, H. Budnikov // Collect. Czech. Chem. Commun. – 2011. – V. 76. – № 12. – P. 1619-1631.
12. Ziyatdinova, G. Voltammetric detection of synthetic water-soluble phenolic antioxidants using carbon nanotube based electrodes / G. Ziyatdinova, A. Gainetdinova, M. Morozov, H. Budnikov, S. Grazhulene, A. Red'kin // J. Solid State Electrochem. – 2012. – V. 16. – № 1. – P. 127-134.
13. Зиятдинова, Г.К. Вольтамперометрическое определение  $\alpha$ -токоферола в присутствии поверхностно-активных веществ / Г.К. Зиятдинова, Э.Р. Гиниятова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2012. – Т. 67. – № 5. – С. 524-530.
14. Ziyatdinova G. MWNT-modified electrodes for voltammetric determination of lipophilic vitamins / G. Ziyatdinova, H. Budnikov // J. Solid State Electrochem. – 2012. – V. 16. – № 7. – P. 2441-2447.
15. Зиятдинова, Г.К. Использование поверхностно-активных веществ в вольтамперометрическом анализе (Обзор) / Г.К. Зиятдинова, Э.Р. Зиганшина, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2012. – Т. 67. – № 11. – С. 968-979.
16. Ziyatdinova, G. Surfactant media for constant-current coulometry. Application for the determination of antioxidants in pharmaceuticals / G. Ziyatdinova, E. Ziganshina, H. Budnikov // Anal. Chim. Acta. – 2012. – V. 744. – P. 23-28.
17. Ziyatdinova, G. Voltammetric determination of  $\beta$ -carotene in raw vegetables and berries in Triton X100 media / G. Ziyatdinova, E. Ziganshina, H. Budnikov // Talanta. – 2012. – V. 99. – P. 1024-1029.
18. Зиятдинова, Г.К. Реакции фенольных антиоксидантов с электрогенерированными гексацианоферрат(III)-ионами и их применение в анализе растительных масел / Г.К. Зиятдинова, А.А. Хузина, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2013. – Т. 68. – № 1. – С. 84-89.
19. Зиятдинова, Г.К. Вольтамперометрическая оценка антиоксидантной емкости чая на электродах, модифицированных многослойными углеродными нанотрубками / Г.К. Зиятдинова, А.М. Низамова, И.И. Айтуганова, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2013. – Т. 68. – № 2. – С. 145-152.
20. Зиятдинова, Г.К. Реакции антиоксидантов коньяка с электрогенерированными окислителями / Г.К. Зиятдинова, И.Р. Салихова, Г.К. Будников // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2013. – Т. 155. – кн. 1. – С. 78-86.



21. Ziyatdinova, G. Voltammetric sensing and quantification of eugenol using nonionic surfactant self-organized media / G. Ziyatdinova, E. Ziganshina, H. Budnikov // *Anal. Methods*. – 2013. – V. 5. – № 18. – P. 4750-4756.
22. Ziyatdinova, G. Electrochemical reduction and quantification of menadione in sodium dodecyl sulfate micellar media / G. Ziyatdinova, E. Ziganshina, H. Budnikov // *J. Solid State Electrochem.* – 2013. – V. 17. – № 10. – P. 2679-2685.
23. Ziyatdinova, G. Differential pulse voltammetric assay of coffee antioxidant capacity with MWNT-modified electrode / G. Ziyatdinova, I. Aytuganova, A. Nizamova, H. Budnikov // *Food Anal. Meth.* – 2013. – V. 6. – № 6. – P. 1629-1638.
24. Ziyatdinova, G. Coulometric titration with electrogenerated oxidants as a tool for evaluation of cognac and brandy antioxidant properties / G. Ziyatdinova, I. Salikhova, H. Budnikov // *Food Chem.* – 2014. – V. 150. – P. 80-86.
25. Ziyatdinova, G. Chronoamperometric estimation of cognac and brandy antioxidant capacity using MWNT modified glassy carbon electrode / G. Ziyatdinova, I. Salikhova, H. Budnikov // *Talanta*. – 2014. – V. 125. – P. 378-384.
26. Зиятдинова, Г.К. Вольтамперометрическое определение пространственно-затрудненных фенолов в самоорганизующихся средах на основе ПАВ / Г.К. Зиятдинова, Э.Р. Зиганшина, К.С. Оськина, Г.К. Будников // *Журн. аналит. химии*. – 2014. – Т. 69. – № 8. – С. 825-832.
27. Зиятдинова, Г.К. Оценка антиоксидантных свойств специй по данным циклической вольтамперометрии / Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // *Журн. аналит. химии*. – 2014. – Т. 69. – № 10. – С. 1086-1093.
28. Ziyatdinova, G. Electrooxidation of morin on glassy carbon electrode modified by carboxylated single-walled carbon nanotubes and surfactants / G. Ziyatdinova, E. Ziganshina, H. Budnikov // *Electrochim. Acta*. – 2014. – V. 145. – P. 209-216.
29. Зиятдинова, Г.К. Оценка антиоксидантной емкости коньяков и бренди методом дифференциальной импульсной вольтамперометрии / Г.К. Зиятдинова, И.Р. Салихова, Г.К. Будников // *Журн. аналит. химии*. – 2014. – Т. 69. – № 12. – С. 1280-1286.
30. Зиятдинова, Г.К. Электрохимическое окисление сиреневого альдегида на ПАВ-модифицированном электроде / Г.К. Зиятдинова, Е.В. Козлова, Э.Р. Зиганшина, Г.К. Будников // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. – 2014. – Т. 156. – кн. 4. – С. 29-39.
31. Зиятдинова, Г.К. Природные фенольные антиоксиданты в биоаналитической химии: состояние проблемы и перспективы развития / Г.К. Зиятдинова, Г.К. Будников // *Успехи химии*. – 2015. – Т. 84. – № 2. – С. 194-224.
32. Ziyatdinova, G. Electroanalysis of antioxidants in pharmaceutical dosage forms: state-of-the-art and perspectives / G. Ziyatdinova, H. Budnikov // *Monatsh Chem.* – 2015. – V. 146. – № 5. – P. 741-753.
33. Зиятдинова, Г.К. Применение электрода, модифицированного углеродными нановолокнами и катионным ПАВ, для вольтамперометрического определения

- сиреневого альдегида и ванилина при совместном присутствии / Г.К. Зиятдинова, Е.В. Козлова, Э.Р. Зиганшина, Г.К. Будников // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 42. – № 6. – С. 132-137.
34. Ziyatdinova, G. New electrochemistry-based approaches to brandy quality evaluation using antioxidant parameters / G. Ziyatdinova, I. Salikhova, N. Skorobogatova, M. Chibisova, H. Budnikov // Food Anal. Methods. – 2015. – V. 8. – № 7. – P. 1794-1803.
35. Зиятдинова, Г.К. Хроноамперометрическое определение синтетических фенольных антиоксидантов в мицеллярной среде Brij® 35 / Г.К. Зиятдинова, К.С. Оськина, Э.Р. Зиганшина, Г.К. Будников // Журн. аналит. химии. – 2015. – Т. 70. – № 12. – С. 1310-1315.
36. Ziyatdinova, G. Simultaneous determination of TBHQ and BHA on a MWNT-Brij® 35 modified electrode in micellar media / G. Ziyatdinova, K. Os'kina, E. Ziganshina, H. Budnikov // Anal. Meth. – 2015. – V. 7. – № 19. – P. 8344-8351.
37. Ziyatdinova, G. Surfactant/carbon nanofibers modified electrode for the determination of vanillin / G. Ziyatdinova, E. Kozlova, E. Ziganshina, H. Budnikov // Monatsh Chem. – 2016. – V. 147. - № 1. – P. 191-200.
38. Ziyatdinova, G. Chronocoulometry of wine on multi-walled carbon nanotube modified electrode: antioxidant capacity assay / G. Ziyatdinova, E. Kozlova, H. Budnikov // Food Chem. – 2016. – V. 196. – P. 405-410.